

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## RECHERCHES SUR LA SPIRILLOSE DES OIES

PAR LE D<sup>r</sup> J. CANTACUZÈNE

---

(Travail du laboratoire de M. E. Metchnikoff.)

---

### I

#### INTRODUCTION

Nous connaissons aujourd'hui deux maladies dues à la pullulation, dans le sang, de microorganismes appartenant au groupe des spirilles. L'une est la fièvre récurrente dont l'agent, pathogène est un spirille découvert par Obermeier en 1868; l'autre est une septicémie atteignant les oies, étudiée pour la première fois en 1890 par M. Sacharoff. Dans l'une et l'autre de ces maladies, on observe ce fait caractéristique que les spirilles, après s'être multipliés dans des proportions vraiment colossales, se mettent à décroître en nombre et finissent par disparaître du sang; souvent un petit nombre d'heures suffit pour que cette disparition soit complète. Dans la fièvre récurrente, cette disparition des spirilles s'effectue plus rapidement et coïncide avec une brusque chute de la température du corps; au contraire, dans la spirilliose des oies, la défervescence se fait d'une manière plus lente, plus progressive, en « lysis », et son début précède souvent de 1-2 jours le moment où les spirilles disparaissent du sang.

Comment expliquer ce brusque départ des spirilles intravasculaires? Que deviennent-ils? Sont-ils détruits sur place? Et par

quel mécanisme? Ce problème a déjà donné lieu à toute une série de recherches systématiques. Les plus importantes, en ce qui concerne la fièvre récurrente, sont, dans l'ordre chronologique, celles de M. Metchnikoff, de M. Soudakewitch et de M. Gabritchewsky.

Les recherches faites par M. Metchnikoff sur des singes ont démontré que, au moment de la crise, les spirilles sont détruits en masse dans la rate, à l'intérieur des leucocytes polynucléaires; ils sont englobés vivants; jamais on n'observe de destruction extra-cellulaire des spirilles dans les humeurs de l'organisme. Jamais, en outre, on ne constate leur englobement par les phagocytes du foie ou de la moelle des os, grands mangeurs de particules inertes. Ce dernier fait va contre l'hypothèse d'une action immobilisante ou atténuante des liquides organiques. Enfin, les spirilles conservent, dans le sang, leur mobilité jusqu'au moment de leur complète disparition.

Les intéressantes recherches de Soudakewitch sur des singes dératés sont venues confirmer cette façon de voir; après avoir constaté que, chez les témoins non dératés, la disparition des spirilles et leur destruction s'effectuaient exactement de la manière décrite par M. Metchnikoff, ce savant vit que le processus est tout différent chez les animaux privés de leur rate; dans ce cas, en effet, la crise n'a pas lieu; le nombre des spirilles va croissant d'une façon continue dans le sang, et l'animal meurt en pleine infection; les spirilles sont, à ce moment, si nombreux que les vaisseaux de moyen calibre se trouvent obturés par de véritables bouchons spirillaires; la moelle des os, les endothelia hépatiques restent complètement inactifs; la pullulation des spirilles et leur extrême mobilité montrent bien qu'ils ne subissent dans ce cas, de la part des humeurs, aucune action bactéricide, et cependant une petite rate supplémentaire rencontrée chez l'un des animaux s'est trouvée gorgée de spirilles contenus à l'intérieur des leucocytes polynucléaires. La fonction défensive de la rate se trouve ainsi bien mise en lumière.

Cet ensemble d'observations ne suffit cependant pas pour convaincre M. Gabritchewsky qui, tout en reconnaissant aux phagocytes un certain rôle dans la destruction des spirilles de la fièvre récurrente, considère cependant la doctrine phagocytaire comme incapable d'expliquer d'une manière satisfaisante la



disparition si brusque des spirilles du sang. Cette explication, il croit la trouver dans le fait de l'apparition, au moment de la crise, de substances bactéricides dans le sang; ces substances causeraient ainsi la mort d'un grand nombre de spirilles contenus dans les vaisseaux; les phagocytes ne feraient qu'achever leur destruction, jouant en quelque sorte le rôle de fossoyeurs. L'expérience fondamentale, sur laquelle M. Gabritchewsky base son hypothèse, est la suivante: si, à une goutte de sang contenant des spirilles bien mobiles, on mélange une goutte de sérum humain normal, on voit les microbes vivre à l'aise pendant 160 heures dans le mélange; si, au contraire, à la goutte contenant les spirilles, on ajoute une goutte de sérum provenant d'un sang critique, on voit les spirilles du mélange périr en 1/2 heure à 37°, en 2-4 h. à la température du laboratoire.

On peut de la sorte constater que le sang des malades devient d'autant plus bactéricide qu'ils approchent davantage de la crise. Nous n'insisterons pas ici sur les expériences de M. Gabritchewsky; nous y reviendrons plus tard à propos de la spirillose des oies. Nous ferons seulement observer d'une façon générale que, de ces observations faites dans des conditions tout à fait artificielles, il est impossible de tirer une conclusion relativement aux processus qui ont lieu dans l'organisme. L'étude d'un grand nombre d'infections expérimentales nous a appris d'une façon certaine que les phénomènes observés *in vitro* ne correspondent nullement à ceux qui se passent dans l'organisme. D'autre part, si M. Mamourowsky et M. Gabritchewsky lui-même ont vu des spirilles dégénérés en forme de chapelets dans le sang de malades en train de faire leur crise, formes qui n'ont été constatées *in vivo* ni par M. Metchnikoff ni par M. Sou-dakewitch, il y a tout lieu de croire qu'il s'agit là de formations artificielles, dues à quelque accident de préparation. Il suffit, en effet, lors du passage à la flamme, de chauffer trop fortement un point quelconque de la préparation, pour retrouver en ce point, et en ce point seul, les spirilles moniliformes de Mamourowsky; dans ce cas, la chaleur détruit par endroits le corps cellulaire, et le spirille ne prend plus la couleur que de place en place, d'où l'impression d'une chaînette de points colorés. Il est aisé d'obtenir, par le même moyen, des apparences analogues, avec les vibrions cholériques.

M. Gabritchewsky, pour expliquer la réapparition, dans le sang, des spirilles, au moment du 2<sup>e</sup> accès, malgré l'état bactéricide des humeurs, a supposé que, dans l'intervalle des accès, quelques spirilles persistent sous forme de spores. C'est là une pure hypothèse que nulle observation directe ne confirme. A propos de la spirillose des oies, il émet également l'hypothèse que les formes végétatives elles-mêmes persistent, après la crise, dans la pulpe des organes internes. Or, chez les oies, les organes internes sont aussi dépourvus de spirilles, la crise terminée, que le sang lui-même. On ne retrouve pendant quelque temps encore de microorganismes vivants que dans la rate et la moelle des os, qui sont précisément les lieux de leur destruction en masse à l'intérieur des phagocytes, ainsi que nous le verrons plus loin.

Dans le but de résoudre le problème de la destruction des spirilles, M. Gabritchewsky a entrepris une nouvelle série d'études<sup>1</sup>; mais cette fois il s'est adressé non à la fièvre récurrente de l'homme, mais à la spirillose des oies. Nous résumons ici en peu de mots la partie de son travail qui concerne la destruction des spirilles chez les oies non immunisées ou ne possédant pas l'immunité naturelle.

Des observations répétées, très minutieuses, ont permis à M. Gabritchewsky de se convaincre que, dans le sang retiré à une oie en pleine infection, la survie des spirilles est d'autant plus courte que la saignée a eu lieu à un moment plus voisin de la crise : cela aussi bien dans les préparations conservées à 37° que dans celles conservées à la température du laboratoire (16°); mais la mort des spirilles se fait toujours plus vite à 37° qu'à 16°. Dans le sang retiré pendant les deux premiers jours de l'infection, les spirilles périssent au bout de 48-60 heures à 37°, de 120-192 heures à 16°; la survie est deux fois plus courte au 3<sup>e</sup> et au 4<sup>e</sup> jour. Dans le sang retiré immédiatement avant la disparition complète des spirilles, ceux-ci périssent au bout de quelques minutes; ils s'immobilisent et se désagrègent sous les yeux de l'observateur; on les voit, dans ce cas, s'agglomérer sous forme de gros pelotons enchevêtrés dans lesquels se manifestent aussitôt d'énergiques phénomènes de bactériolyse; en peu d'instants tous les microorganismes sont

1. *Centralblatt f. Bact.* XXIII, n<sup>os</sup> 9, 10, 11, 15, 17, 18, 1898.



réduits en fines granulations. Comme l'on trouve à ce moment dans les préparations un grand nombre de leucocytes dégénérés, on pourrait rattacher à cette phagolyse l'origine de la substance bactéricide. De semblables pelotons commencent à apparaître dans le sang en circulation vers la fin du 4<sup>e</sup> jour; avant ce moment, le sang circulant présente fréquemment des spirilles agglutinés sous forme de mèches ou de faisceaux; il s'agit en effet là de véritables processus agglutinatifs. Chez les oies qui ont résisté à la maladie, le sang conserve encore des propriétés bactéricides très marquées; au contraire, les propriétés bactériolytiques disparaissent rapidement.

Les expériences précédentes ne permettent pas, selon M. Gabritchewsky, de douter de la formation, dans le sang, de substances bactéricides. Comment ces substances sont-elles réparties dans l'organisme? Les divers appareils en sont-ils également saturés?

Si à du sang contenant des spirilles bien mobiles on ajoute d'une part du sérum critique, de l'autre une émulsion de pulpe de rate, de moelle des os, etc., recueillie au moment de la crise, on voit les spirilles périr en 5-15 minutes dans le sérum, survivre au contraire 3-9 heures au contact de l'émulsion de rate, 3-7 heures en présence des cellules de la moelle. De plus le sang est inégalement bactéricide dans les différents points du territoire vasculaire; le pouvoir bactéricide est, par exemple, infiniment plus prononcé dans le sang du cœur que dans le sang recueilli au sortir de la rate. Le sang représente donc le milieu bactéricide où s'opère la destruction des spirilles; et c'est précisément parce que la rate représente un milieu dont le pouvoir bactéricide est relativement faible, que l'on voit les spirilles y séjourner encore longtemps après leur disparition du sang.

Ces phénomènes observés *in vitro* permettent-ils de conclure à des processus analogues dans l'organisme? Sans nul doute, dit M. Gabritchewsky, surtout si l'on tient compte du caractère spécifique des substances bactéricides, et aussi du fait que les oscillations du pouvoir bactéricide suivent exactement les diverses phases de la maladie. D'ailleurs, dès l'instant que l'on attribue à la phagolyse les phénomènes bactéricides observés *in vitro*, pourquoi ne pas raisonner de même relativement à la destruction des spirilles dans l'organisme? Ne sait-on pas en effet

qu'un grand nombre de leucocytes périssent constamment dans le sang? La leucocytose du sang qui accompagne l'infection spirillienne est un fait constant, plus précoce seulement chez des oies protégées par le sérum immunisant. L'état bactéricide du sang est une conséquence de cette leucocytose critique; sous l'action de la substance bactéricide les spirilles s'agglutinent, puis se désagrègent; l'activité phagocytaire n'apparaît que comme un adjuvant de ces processus extracellulaires.

Telles sont les conclusions d'une partie, tout au moins, du travail de M. Gabritchewsky.

Sur les conseils de mon maître, M. Metchnikoff, j'ai repris en détail l'étude des processus anatomo-pathologiques qui accompagnent la pullulation des spirilles dans l'organisme des oies et leur disparition; j'ai constamment tâché de mettre en regard les phénomènes observés *in vitro* et ceux observés dans le sang circulant ou dans les organes.

Les spirilles qui ont servi à nos expériences ont été obligeamment fournis par M. Gabritchewsky à M. Roux, qui a bien voulu les mettre à notre disposition. Nous l'en remercions sincèrement.

Je rappelle ici, d'après Sacharoff et Gabritchewsky, que les oiseaux sensibles à l'infection spirillienne sont l'oie et le canard; les poules succombent rarement; le pigeon et le moineau sont réfractaires, ainsi que tous les autres animaux de laboratoire. J'ajouterai que si la poule adulte est presque réfractaire à la maladie, les très jeunes poussins y sont au contraire extraordinairement sensibles.

Une semblable étude nécessitait la recherche d'une bonne technique pour la coloration des spirilles dans les coupes. Cette coloration est en effet d'une difficulté extrême; elle est infiniment plus laborieuse que celle des spirilles d'Obermeier, et cela d'abord parce que le spirille de Sacharoff se décolore beaucoup plus facilement; en outre, n'étant jamais englobé par les leucocytes polynucléaires, mais bien par les mononucléaires dont le protoplasma est basophile, il est très difficile de le différencier à l'intérieur des phagocytes.

La méthode qui a donné à Nikiforoff de bons résultats pour la coloration des spirilles d'Obermeier a échoué entre nos mains dans la spirillose des oies. Et d'abord signalons l'impor-



tance du liquide fixateur; les organes fixés par le sublimé, l'acide chromique, l'acide picrique, l'acide nitrique (réactif d'Altmann) ou l'alcool n'ont donné que des colorations défectueuses; seuls les liquides contenant de l'acide osmique nous ont fourni des fixations permettant de déceler les spirilles englobés par les phagocytes. Voici, parmi les nombreuses méthodes essayées, celle qui nous a fourni les meilleurs résultats :

1° Fixer les organes (débités en fragments très petits) par le liquide de Flemming faible; laisser 24 heures dans le liquide fixateur;

2° Laver à l'eau pendant 24 heures;

3° Série des alcools, xylol, inclusion à la paraffine;

4° Colorer les coupes collées sur lame avec le liquide suivant :

Solution fuchsinée de Ziehl.....	2 parties.
Glycérine neutre.....	1 partie.

Les coupes doivent être très minces et ne pas dépasser 3-4  $\mu$  d'épaisseur. Il faut laisser 24 heures en contact avec le bain colorant. On peut, dans la solution de Ziehl, remplacer la fuchsine par le rouge de Magenta;

5° Laver à l'eau rapidement; enlever l'excès d'eau au papier buvard, puis plonger la préparation dans une série de bains d'éther pour éviter la déshydratation par l'alcool (il faut employer de l'éther aussi anhydre que possible). L'immersion totale dans l'éther dure 4-6 heures;

6° Monter les coupes dans le baume dissous dans l'éther.

On obtient de la sorte des préparations dans lesquelles les spirilles apparaissent nettement différenciés au milieu des éléments cellulaires qui les renferment.

## II

### SPIRILLOSE DES JEUNES POUSSINS

Les jeunes poussins âgés de 1-4 semaines succombent sans exception à l'injection par le spirille de Sacharoff. Il suffit, pour donner la maladie à l'un de ces jeunes animaux, de lui injecter sous la peau quelques gouttes de sang provenant d'une oie malade. L'incubation varie de 1 à 4 jours; elle est d'autant plus

courte que l'animal est plus jeune; elle est de 3 jours en moyenne chez un poussin de 2 semaines. Les spirilles, sitôt apparus dans le sang, s'y multiplient avec une rapidité extraordinaire, et l'animal meurt 24 heures environ après cette apparition, avec une masse colossale de spirilles dans les vaisseaux. A l'autopsie on observe une congestion intense du péritoine qui ne renferme ni exsudat liquide ni dépôts fibrineux; le foie est hyperhémie; le péricarde renferme un exsudat clair assez abondant; la rate est très tuméfiée, résistante lorsque l'incubation a été courte, d'une consistance molle et friable quand cette incubation a duré davantage. Il y a dans le sang une hypoleucocytose très marquée, mais portant exclusivement sur les polynucléaires; la proportion des lymphocytes est au contraire fort élevée.

Le sang retiré au moment de la mort fourmille de spirilles très mobiles; ces derniers se présentent à l'état isolé; souvent aussi ils s'accolent sous forme de mèches ou d'écheveaux. Les spirilles sont entiers et jamais nous n'avons pu observer, dans le sang fraîchement retiré, d'individus dégénérés en chapelet ou de granulations libres. Si l'on prépare avec ce sang une goutte suspendue, maintenue à la température du laboratoire, on assiste aux modifications suivantes; très rapidement, en un espace de temps variant de 20 minutes à 1 heure, on voit les spirilles s'agglomérer d'abord en gros pelotons enchevêtrés, de forme irrégulière. Les spirilles occupant le centre de l'amas s'immobilisent presque instantanément et se désagrègent en fines granulations; cependant la surface du peloton continue à être abordée normalement par des spirilles nouveaux venus qui s'agitent pendant quelques minutes encore; puis l'immobilisation des micro-organismes s'étend du centre à la périphérie; les phénomènes de bactériolyse également, et finalement le peloton entier se trouve transformé en un amas informe de granulations où la forme des spirilles n'est plus reconnaissable. Or, nous le répétons, jamais dans le sang fraîchement retiré nous n'avons vu rien de semblable; on n'y trouve ni pelotons ni granulations; par contre un grand nombre de spirilles en voie de division.

Le liquide péricardique contient en assez grande quantité des spirilles bien mobiles, sans trace de dégénérescence; ils y sont bien moins nombreux que dans le sang. Dans les gouttes pendantes, à la température du laboratoire, les mouvements cessent



au bout 2 h.  $1/2$  à 5 h.  $3/4$ . On y observe la formation de quelques pelotons, mais d'une façon beaucoup moins générale que dans le cas précédent; bon nombre de spirilles restent isolés et ne subissent pas la transformation granuleuse; l'exsudat péri-cardique contient très peu de leucocytes; ce sont presque exclusivement des lymphocytes.

La moelle des os renferme de nombreux spirilles, animés de mouvements très vifs; beaucoup sont en voie de division. Ça et là on rencontre quelques amas en forme de mèches; jamais de pelotons. D'ailleurs ces mèches se défont rapidement dans les gouttes pendantes, et les individus qui les composaient reprennent leur mobilité. En général nous avons constaté la formation de ces mèches là où les spirilles sont très nombreux et entassés dans un petit espace. Ces spirilles de la moelle sont toujours libres; nous n'en avons jamais trouvé à l'intérieur des phagocytes.

La rate contient un nombre colossal de spirilles mobiles, isolés, non réunis en mèches, et libres dans la plupart des cas. Cependant il nous est arrivé plusieurs fois de trouver sur nos frottis des phagocytes ayant englobé des spirilles. Ces phagocytes ne sont jamais des leucocytes polynucléaires, mais toujours de grands macrophages mononucléés, à noyau vésiculeux, contenant toute espèce de débris cellulaires, et renfermant aussi des spirilles; ces derniers ne sont point logés à l'intérieur de vacuoles, mais directement dans le protoplasme cellulaire; ils se colorent mal, la plupart du temps, mais ne sont point réduits en granulations. Le nombre de ces spirilles englobés est d'ailleurs très faible.

Sur des coupes du foie on constate qu'il existe des spirilles en très grande quantité à l'intérieur des vaisseaux; certains vaisseaux-ports sont presque obstrués par les microbes souvent agglomérés sous formes de mèches; jamais d'ailleurs on n'observe dans ces mèches de dégénérescence granuleuse; les spirilles s'y colorent bien. Ces derniers sont toujours extra-cellulaires.

En somme la mort survient chez les poussins avec une infection de tous les organes; l'accumulation des spirilles est particulièrement considérable dans la rate; et cependant ils y présentent une mobilité aussi grande que dans n'importe quel autre point de l'organisme. L'entassement des spirilles en ce point

s'explique très bien si l'on songe qu'à ce niveau il y a ralentissement très considérable du courant sanguin ; les particules en suspension y subissent des frottements multiples et un certain degré de stagnation ; d'où leur accumulation en ce point. C'est d'ailleurs là une condition tout à fait favorable à la phagocytose ; aussi voyons-nous un certain nombre des macrophages ayant englobé des spirilles.

Jamais, ni sur les coupes ni dans les frottis d'organes, on ne constate trace de phénomènes bactériolytiques, ou de modifications dans la forme ou la colorabilité des spirilles. Ces processus de dégénérescence sont au contraire des plus prononcés dans les gouttes suspendues et se produisent avec d'autant plus d'intensité que le nombre des spirilles est plus grand. Plus l'infection de l'animal est sévère, plus les processus d'agglutination et de bactériolyse sont énergiques *in vitro*. C'est là un fait que nous avons pu constater toutes les fois, sans exception.

Par suite de la perte accidentelle de nos spirilles, nous n'avons pu étudier leur mode de destruction chez les poulets adultes, naturellement réfractaires. Il y a là un point des plus intéressants à éclaircir.

### III

#### ÉVOLUTION DE LA SPIRILLOSE CHEZ LES OIES

Voici comment évolue la maladie chez une oie adulte. On infecte l'animal en lui injectant sous la peau (à la face inférieure de l'aile, p. ex.) quelques gouttes de sang fraîchement prélevé à une autre oie en pleine infection. L'incubation dure 3 jours en moyenne ; elle est, comme on le voit, un peu plus longue que chez les oies russes ; ces dernières, plus petites de taille que la plupart des oies françaises, présentent une incubation de deux jours environ ; ayant eu au cours de nos expériences l'occasion d'expérimenter une fois sur un lot d'oies françaises, dont la faible taille se rapprochait du type russe, nous vîmes chez ces dernières la durée de l'incubation se réduire à deux jours.

La durée totale de l'infection sanguine, entre le moment de la première apparition des spirilles dans le sang jusqu'après leur disparition, est de 5 jours en moyenne. Les oies vieilles meurent



24 ou 48 heures après la disparition complète des spirilles ; les oies jeunes meurent le plus souvent en pleine infection, et avant que les spirilles n'aient disparu du sang.

A mesure qu'approche la fin de la maladie, l'animal cesse de manger ; il devient languissant, il présente de la diarrhée, bientôt il s'affaisse, cesse de marcher et demeure accroupi, dans un état demi-comateux jusqu'à sa mort. La mort ne se produit pas, d'ailleurs, fatalement ; dans  $1/10$  des cas, nos animaux ont survécu,  $1/3$  se sont montrés réfractaires dans les expériences de M. Sacharoff.

La température des oies s'élève en général dès la 12<sup>e</sup> heure qui suit l'inoculation ; elle monte progressivement de  $1\ 1/2^{\circ}$  à  $2^{\circ}$  jusque vers le moment où les spirilles apparaissent dans le sang, atteignant ainsi  $42^{\circ},5$  ou  $43^{\circ}$  ; puis elle commence à baisser un peu avant que le nombre des spirilles ait atteint son maximum, et décroît progressivement pour tomber, avant la mort, à 1 ou 2 degrés au-dessous de la normale. La défervescence, au lieu d'être brusque comme dans la fièvre récurrente, se fait donc ici « en lysis ».

D'une façon générale, l'injection des spirilles est suivie d'une hyperleucocytose totale qui, de 30,000 leucocytes par m. m. c. (chiffre moyen), monte à 50,000, 60,000 et plus.

Cette hyperleucocytose est peu sensible au début ; elle ne se manifeste nettement qu'à partir du moment où les spirilles apparaissent dans le sang. Le maximum de la leucocytose coïncide assez exactement avec le maximum de l'infection sanguine ; elle décroît ensuite et revient à la normale vers le moment de la mort. Si nous considérons les diverses catégories de leucocytes, nous voyons que le nombre des polynucléaires augmente progressivement pendant les premiers jours, puis baisse légèrement vers la fin pour revenir sensiblement au chiffre initial. De ce côté les phénomènes sont donc peu caractéristiques. Par contre, signalons la disparition constante des leucocytes éosinophiles pendant la dernière partie de la maladie.

Les spirilles, avons-nous dit, apparaissent en général dans le sang vers le 3<sup>e</sup> jour de la maladie ; d'abord peu considérable, leur nombre devient énorme 2 jours environ après leur apparition. A partir de ce moment ce nombre décroît, mais cette décroissance, au lieu de se faire brusquement comme dans la

fièvre récurrente, s'opère progressivement, en lysis, comme la température. Les spirilles mettent de la sorte 2 jours en moyenne pour disparaître du sang. Aussi emploierons-nous désormais les termes de « lyse » et « lytique » à la place de « crise » et « critique » peu appropriés à la spirillose d'oie. Alors que l'on n'en trouve plus dans le sang de la circulation générale, on les rencontre souvent encore en assez grande quantité dans le sang de la papille vasculaire logée à l'intérieur des plumes de l'aile; à ce moment on constate également leur présence dans l'épanchement péricardique qui, fréquemment, se produit vers la fin de la maladie.

Nous avons soigneusement observé la mobilité des spirilles aux diverses phases de la maladie : nos observations ont porté sur un grand nombre de cas et ont été faites d'heure en heure jusqu'au moment de leur complète disparition. Les résultats de ces observations ont été absolument constants; nous avons pu, de la sorte, nous convaincre que les spirilles gardent leur mobilité intacte, sans modification, depuis leur arrivée dans le sang jusqu'à leur départ; les derniers spirilles observés chez une oie arrivée au terme de sa maladie sont tout aussi mobiles qu'au début du processus infectieux. Alors que l'on ne trouve plus de spirilles dans le sang de la circulation générale, alors par conséquent que l'animal a achevé sa *lyse*, si l'on observe les spirilles encore présents dans la papille vasculaire des plumes, on constate que la mobilité de ces derniers n'est nullement affaiblie; on les voit traverser comme des flèches le champ du microscope.

De plus, il nous est arrivé fréquemment de rencontrer des spirilles en voie de division dans le sang à la fin de la lyse. Bref, entre la mobilité et l'activité des spirilles au début de la maladie et à la fin de la lyse, nous n'avons jamais pu constater aucune différence.

On peut en dire autant de leur longévité; c'est ainsi que des spirilles ont gardé plus de 24 heures leur mobilité dans du sang recueilli pendant les dernières heures de la maladie; au contraire, chez la même oie, les spirilles ont vécu moins de 2 heures dans le sang recueilli au fort de l'infection. Nous reviendrons avec détail sur cette question de la résistance des spirilles hors de l'organisme dans le prochain chapitre; nous avons voulu simplement montrer ici qu'au moment de la lyse



la vitalité des spirilles n'est affaiblie à aucun point de vue.

Souvent, dans le sang frais, on observe des sortes de mèches ou d'écheveaux constitués par des spirilles accolés les uns aux autres dans le sens de leur longueur; parfois (fig. 4) ces écheveaux s'intriquent et forment des réseaux compliqués. Ces formations ne présentent d'ailleurs aucune stabilité; en effet, examinées en gouttes suspendues, elles se défont au bout de quelques minutes; les individus qui les composaient se séparent et se mettent à nager isolément sans avoir rien perdu de l'énergie de leurs mouvements. Il ne s'agit par conséquent pas ici de phénomènes d'agglutination.

Rien n'est d'ailleurs moins constant que l'apparition de ces écheveaux spirillaires; chez certaines de nos oies, nous n'avons jamais pu, malgré toute notre attention, constater, à aucun moment, de formations semblables; chez d'autres, nous les avons vu apparaître aux périodes les plus diverses de la maladie; parfois on les rencontre au 2<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine pour ne plus les retrouver ensuite; il est, par contre, excessivement rare de les observer pendant la lyse; on peut dire d'une façon générale que plus les spirilles sont entassés en grand nombre dans un espace restreint, plus ils ont une tendance à s'accoler de la sorte. Enfin, on observe ces formations surtout chez les oies jeunes qui meurent sans faire leur lyse.

Après tout cela, il apparaît comme bien évident que la formation d'écheveaux spirillaires dans le sang n'a aucune relation avec la disparition des spirilles; c'est d'ailleurs ce que démontre clairement l'étude de la maladie chez les jeunes poussins: dans ce cas, en effet, le nombre des spirilles va en augmentant jusqu'à la mort de l'animal, et l'on observe dans le sang des écheveaux d'autant plus nombreux que le dénouement est plus proche.

Jamais il ne nous a été possible de constater dans le sang frais, à un stade quelconque de la maladie, de phénomènes de bactériolyse; jamais nous n'avons vu les écheveaux spirillaires se désagréger en granulations. A aucun moment non plus, malgré l'attention toute particulière apportée sur ce point, nous n'avons observé, dans le sang, de spirilles morts ou immobiles.

Les deux lésions les plus caractéristiques que l'on observe à l'autopsie d'une oie morte après la fin de la lyse, sont la dégéné-

rescence grasseuse du foie et la tuméfaction de la rate. Le foie est parsemé dans toute son épaisseur d'îlots jaunâtres de dégénérescence grasseuse. On ne commence à observer cette lésion que deux ou trois jours après l'apparition des spirilles dans le sang.

Quant à la rate, plus l'animal est mort à un degré avancé de la maladie, plus cet organe est volumineux, plus sa consistance est molle. Elle est presque diffluite chez ceux qui ont complètement achevé leur lyse, tellement elle est gorgée de sang. Parfois, à la coupe, on la trouve parsemée de petits lymphomes jaunâtres, du volume d'une tête d'épingle, et composés exclusivement de macrophages mononucléaires. On observe souvent, vers la fin de la maladie, un épanchement péricardique, clair, pauvre en cellules. Quant au péritoine, il ne renferme ni exsudat ni dépôts fibrineux; rien que des phénomènes banals d'hyperhémie. Les reins sont très fortement congestionnés.

Voyons maintenant quelle est, pendant l'infection sanguine, la distribution des spirilles dans les divers organes, et demandons-nous en quels points de l'organisme on les retrouve encore, après qu'ils ont disparu du sang.

D'une façon générale, on peut tout d'abord constater qu'après la lyse on ne trouve plus de spirilles dans les vaisseaux du cerveau, des reins ni des poumons.

Au contraire, la rate joue un rôle des plus importants pendant toute la durée de l'infection, aussi bien au moment où les spirilles pullulent dans les vaisseaux de la circulation générale, qu'après la fin de la lyse.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer de rate au 1<sup>er</sup> jour de l'apparition des spirilles; il est néanmoins probable que les spirilles s'y montrent en même temps que dans le sang: en effet, dès le 2<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine, on trouve dans la rate des spirilles en quantité notable, tous très mobiles et ne présentant aucune déformation morphologique. Dans le cas unique que nous avons observé à ce stade de la maladie, les spirilles étaient libres; nous n'en avons point trouvé à l'intérieur des phagocytes.

Au contraire, dès le 3<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine, on constate dans la rate une énergique réaction phagocytaire; sur les frottis, à côté de spirilles libres, non dégénérés, on observe un



nombre assez considérable de spirilles enfermés dans les phagocytes. Ces derniers sont toujours de grands macrophages mononucléaires, à noyau vésiculeux, à protoplasme très abondant et renfermant des inclusions de toute espèce; certains sont bondés de spirilles et nous en avons compté jusqu'à 11 dans la même cellule. Les microorganismes sont tantôt logés directement dans le protoplasme, tantôt enfermés dans une grande vacuole claire à l'intérieur de laquelle ils sont pelotonnés sur eux-mêmes. Cependant au début de l'infection le nombre des macrophages à vacuoles est faible. Sitôt englobés, les spirilles perdent rapidement leur colorabilité; comme, d'autre part, le protoplasme des phagocytes prend fortement la fuchsine, les microbes englobés demandent, pour être distinctement vus, un éclairage très puissant. A l'intérieur des phagocytes ils semblent être dissous en bloc, sans se résoudre en granulations. Jamais, non plus qu'à aucun autre stade de la maladie, on n'en trouve à l'intérieur des polynucléaires. D'ailleurs le nombre des polyclunéaires présents dans la rate est minime.

C'est au 4<sup>e</sup> et au 5<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine que l'on trouve le plus de spirilles dans la rate; le nombre des microbes libres est extrêmement considérable; ils conservent toute leur mobilité; d'autre part la phagocytose est intense. Au moment de la lyse le nombre des spirilles libres devient faible; c'est à ce moment, au contraire, qu'on en rencontre le plus grand nombre à l'intérieur des macrophages. Quand les spirilles ont complètement disparu du sang, on continue à en rencontrer çà et là, dans la rate; mais ces individus libres sont en quantité peu considérable; les phagocytes, par contre, en contiennent en abondance; mais ils y dégénèrent rapidement et deviennent, en très peu de temps, invisibles. La fin de la lyse est caractérisée par la formation très abondante, dans les macrophages, de vacuoles digestives, contenant souvent des spirilles.

On peut, de la sorte, se convaincre que l'activité phagocytaire s'exerce dans la rate tout le temps que dure l'infection; elle devient de plus en plus énergique à mesure qu'approche la fin de la lyse, pour acquérir très rapidement une intensité considérable au moment où les spirilles disparaissent du sang. Il y a là, vraisemblablement, une accoutumance qui se fait progressivement chez les phagocytes, ainsi qu'en témoigne le nombre tou-

jours croissant de vacuoles digestives que l'on observe à l'intérieur de ces éléments. Les coupes de la rate sont des plus intéressantes à étudier au moment où les spirilles viennent de disparaître du sang. Tout d'abord les lacunes vasculaires et les capillaires veineux de l'organe frappent par leur état de distension ; elles sont gorgées de sang ; à l'intérieur de ces lacunes se trouvent d'énormes éléments cellulaires libres, isolés, à noyau vésiculeux, à protoplasme basophile ; ce sont les macrophages normaux de la pulpe de rate ; les vacuoles claires qui les distendent contribuent à leur donner cette taille colossale qui étonne au premier abord. L'état vacuolaire anormal de tous ces éléments est peut-être ce qu'il y a de plus caractéristique pour l'œil dans une rate typhique. En effet, le corps entier de la cellule est constitué par une colossale vacuole entourée d'un mince liséré protoplasmique contenant le noyau et des inclusions diverses. Il faut une certaine habitude de l'histologie de la rate pour reconnaître, dans ces formations complexes, des éléments cellulaires, et non la coupe d'un capillaire sanguin. C'est à l'intérieur de ces vacuoles que l'on peut observer les spirilles plus ou moins pelotonnés sur eux-mêmes ; parmi ces spirilles englobés, les uns se colorent assez vivement ; mais le plus souvent ils se présentent sous forme de filaments, à peine colorés, véritables ombres spirilliennes, qui indiquent combien l'action des sucs digestifs intra-cellulaires est rapide.

Il est assez rare de trouver à ce moment des spirilles libres dans la rate ; cependant çà et là on observe quelques individus isolés ou quelques mèches dans l'intérieur des artérioles, jamais à l'intérieur des veines ou des lacunes. Ces microbes libres se colorent avec intensité et ne présentent ni formes en chapelets ni granulations.

Il est bien certain après cela que c'est à l'intérieur des phagocytes habitant les lacunes de la pulpe que s'opère la destruction des spirilles. Jamais nous n'avons rencontré de microorganismes intra ou extra-cellulaires dans les glomérules de Malpighi, contrairement à ce que l'on observe dans la fièvre récurrente.

Que se passe-t-il dans la moelle des os pendant que la rate est le siège d'une destruction continue et progressivement croissante de spirilles ? Depuis le moment où les spirilles font leur apparition dans le sang jusqu'à celui où ils en disparaissent,



on les rencontre en très grande quantité à l'intérieur des sinus de la moelle, en plus grande quantité même, semble-t-il, que dans la rate; mais ceci est une illusion due à ce fait que l'englobement par les phagocytes est ici très peu actif et ne commence que tardivement. C'est entre le 4<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine que la moelle contient le plus de spirilles; leur maximum correspond au moment de leur complète disparition du sang. On commence maintenant à rencontrer des macrophages contenant des spirilles; mais l'englobement est infiniment moins énergique que dans la rate, et fréquemment, à la mort de l'animal, alors que la destruction des microorganismes dans la rate est achevée, on trouve encore dans la moelle osseuse des spirilles libres en grand nombre. — Ces spirilles gardent d'ailleurs leur mobilité jusqu'à la fin; souvent, au moment où leur accumulation dans les sinus sanguins est la plus considérable, ils s'accolent sous forme de mèches; mais ces dernières se défont rapidement dans les gouttes suspendues et se résolvent en individus intacts et très mobiles. Jamais dans les frottis de moelle nous n'avons observé de spirilles granuleux ou dégénérés.

Le foie ne contient jamais de spirilles qu'en assez faible quantité. Nous n'avons pu observer d'englobement par les cellules étoilées de Kupfer.

On constate à la fin de la *lyse* que, dans le rein, les cellules épithéliales de la branche ascendante de Henle sont gonflées et atteintes de tuméfaction trouble.

De cette étude sur la marche de l'infection spirillienne chez les oies il résulte ceci : *les spirilles ne périssent pas dans le sang*; à aucun moment ils ne semblent gênés par la présence d'une substance bactéricide quelconque, puisque, du commencement à la fin, ils conservent, sans altération, leur forme, leur mobilité, leur aptitude à se reproduire. On n'y observe pas de phénomènes d'agglutination; on ne peut en effet faire rentrer dans cette catégorie la formation de mèches, qui d'une part se résolvent, dans les gouttes suspendues, en individus mobiles et vigoureux, et qui, de l'autre, cessent de se produire précisément au moment où le nombre des spirilles baisse dans le sang, c'est-à-dire au moment où le milieu devait être le plus bactéricide. — Jamais on n'observe non plus, dans le sang, d'englobement des spirilles par les phagocytes.

L'hypothèse du développement dans les humeurs de substances bactéricides, au moment de la lyse, tombe également devant ce fait que, après la disparition complète des spirilles du sang, on trouve encore, dans la papille vasculaire des plumes, des spirilles très mobiles en assez grand nombre; on en trouve aussi, à la même période, dans l'exsudat péricardique, où ils sont animés de mouvements énergiques.

*Les spirilles ne périssent pas davantage dans les humeurs de la rate ou de la moelle des os.* Là encore, ils conservent jusqu'à la fin leur mobilité; jamais on n'y observe de formes dégénérées en dehors des cellules. Leur accumulation dans ces organes s'explique par la structure anatomique de ces derniers. En effet, le sang des capillaires artériels venant à tomber dans les lacunes de la pulpe, il se produit à ce niveau une diminution brusque de la pression sanguine, un ralentissement considérable du courant et par là même un arrêt des particules en suspension; en outre, l'extrême état de division de ces lacunes traversées en tous sens par des brides conjonctives, encombrées de cellules de toutes sortes, y multiplie les frottements; ce sont là des dispositions éminemment favorables à la stagnation des corps solides entraînés avec le courant sanguin; très favorables par là même à l'englobement de ces corps par les phagocytes. C'est un phénomène analogue à celui que l'on peut constater dans l'infection péritonéale du cobaye par le vibrion cholérique; dans ce cas, en effet, on trouve un nombre considérable de vibrions accumulés dans les replis et sur toute la surface de l'épiploon, n'ayant d'ailleurs rien perdu de leur mobilité. Or, l'on constate en ce point un actif englobement des vibrions par les leucocytes polynucléaires, alors que les phénomènes de phagocytose sont presque nuls au sein de la masse de liquide qui distend le péritoine.

Ainsi donc, dès le début de l'infection spirillienne, un certain nombre de spirilles sont arrêtés dans les organes lacunaires et leur nombre va forcément en croissant. *Mais si l'accumulation des microorganismes se fait également dans la rate et la moelle osseuse, il n'en est pas de même de leur destruction.* Dans la rate, dès le début, les macrophages englobent et détruisent un certain nombre de spirilles; cet englobement devient de plus en plus énergique à mesure qu'approche la fin de la lyse; il se produit



là une accoutumance progressive des phagocytes spléniques, accoutumance qui aboutit à la destruction complète de tous les spirilles de la rate, et est rendue visible aux yeux de l'observateur par la formation de plus en plus abondante de vacuoles digestives. — Dans la moelle, cette accoutumance des macrophages se fait plus lentement et plus tardivement, si bien que, dans certains cas, il s'y trouve encore des spirilles libres au moment de la mort de l'animal.

Cependant, le plus souvent, la mort survient lorsque l'on ne trouve plus de spirilles libres en aucun point de l'organisme. Cette mort, se produisant malgré la destruction complète des agents pathogènes, est certainement un phénomène très remarquable.

Il est bien certain que, dans ce cas, les éléments de défense ne sont point parvenus à détruire les toxines microbiennes, et l'on doit rapprocher ce fait de cet autre, que les leucocytes polynucléaires n'interviennent à aucun moment au cours de la lutte, fait absolument anormal et qui n'est comparable à aucun cas connu. Les macrophages interviennent seuls dans le cas qui nous occupe, et leur intervention reste manifestement insuffisante.

Par suite de la perte accidentelle de nos spirilles, nous n'avons malheureusement pas pu poursuivre nos recherches ni étudier la marche de l'infection chez des oies naturellement réfractaires ou protégées par le sérum immunisant. L'unique observation faite par nous dans ce sens est la suivante : ayant injecté du sang contenant des spirilles dans la nageoire d'une oie possédant l'immunité naturelle, et ayant retiré, quatre heures après, une goutte d'exsudat au point d'inoculation, nous avons observé des spirilles à l'intérieur de deux leucocytes polynucléaires; cette observation unique montre quel intérêt il y aurait à étudier, chez des oies réfractaires, le mécanisme de l'immunité.

#### IV

##### ÉTUDES DES SPIRILLES DANS LES HUMEURS RETIRÉES DE L'ORGANISME

Examinons maintenant ce que deviennent les spirilles conservés hors de l'organisme dans le sang ou la lymphe retirés à

divers stades de la maladie. Pour faire un semblable examen, le procédé est des plus simples : on pique la membrane interdigitale ou bien une veine de la face inférieure de l'aile ; au moyen d'une pipette on dépose une goutte du sang ainsi obtenu sur une lamelle que l'on renverse sur une lame creuse ; on lute la petite chambre humide avec de la paraffine ou de la vaseline, et l'on observe à divers intervalles l'état des spirilles dans la préparation maintenue soit à 37°, soit à la température du laboratoire. On peut aussi emprunter la goutte de liquide à une plume jeune de l'aile ; après l'avoir arrachée on recueille sur la lamelle le sang qui vient sourdre à l'extrémité ; l'observation des spirilles dans ce milieu relativement pauvre en cellules est des plus faciles.

Soit une goutte de sang préparée de la sorte et fournie par une oie arrivée au 2<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine. Au moment où l'on retire le sang, les spirilles sont bien mobiles, bien grouillants, ils sont isolés ; si par aventure il existe quelques faisceaux de spirilles accolés, ces derniers ne tardent pas à se séparer et à reprendre individuellement leurs mouvements rapides. Au bout de 3, 4 heures, on observe, chez beaucoup d'entre eux, une tendance manifeste à s'agglomérer sous forme de pelotons ; pendant assez longtemps, les spirilles qui composent les pelotons présentent encore des mouvements vibratoires très rapides ; puis ils s'immobilisent, ceux du centre en premier lieu, ceux de la périphérie en dernier. Dans le cas que nous analysons, 6 h. 35 après la confection de la goutte, à la température du laboratoire (20°), tous les spirilles contenus dans la goutte étaient immobilisés, les uns isolés, les autres sous forme de mèches, les autres enfin sous la forme des gros pelotons décrits plus hauts. Les spirilles sont entiers ; on n'observe aucun phénomène de bactériolyse. La préparation maintenue à 37° montre la même succession de phénomènes ; mais l'immobilisation complète est ici obtenue en 3 h. 50. C'est là ce qui s'observe dans un cas moyen. Quand le nombre des spirilles est très élevé, on observe fréquemment dans les gros pelotons des phénomènes de bactériolyse, surtout au centre de la masse ; en ce point, les spirilles se désagrègent et sont remplacés par un amas de très fines granulations.

Telle est la série des phénomènes qui s'accomplissent dans du



GOUTTES SUSPENDUES DE SANG DE L'AILLE (Température du Laboratoire.)						GOUTTES SUSPENDUES DE SANG DES PLUMES (Température du Laboratoire.)							
JOUR de l'infection du sang.	1 <sup>er</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>	4 <sup>e</sup>	5 <sup>e</sup>	JOUR de l'infection du sang.	1 <sup>er</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>	4 <sup>e</sup>	5 <sup>e</sup>	6 <sup>e</sup>	
Durée en heures de la mobilité des spirilles.	5 h. 40 7 h. 40	6 h. 35 2 h. 24 h.	0 h. 52 20 h. 3 h. 50	3 h. 20 4/2 h. 3/4 h.	4 h.	Durée en heures de la mobilité des spirilles:	5 h. 4/2	49 h. 43 h.	3 h. 46 h. 26 h.	4 h. 1/2 4/2 h. 0 h. 40	2 h. 43 54 h. 40 h.	29 h. 47 h.	
		2 h. 1/2	1 h. 25	4 h. 10					42 h.		34 h. 18 h. 16 h. 21 h.		

sang maintenu en goutte suspendue. L'intensité des phénomènes d'agglutination et le temps qui s'écoule jusqu'à l'immobilisation complète des spirilles varient considérablement d'un cas à l'autre, et, chez la même oie, d'un moment à l'autre. On pourra juger de cette variabilité d'après les tableaux de la p. 549; on y verra, pour chacun des jours de l'infection sanguine; le temps qui s'est écoulé jusqu'à l'immobilisation des spirilles maintenus à la température du laboratoire.

Il est aisé de se rendre compte, à l'inspection de ces tableaux, que la rapidité d'immobilisation ne croît nullement d'une façon régulière à mesure que l'on approche de la fin de la lyse; c'est là, au contraire, un phénomène essentiellement variable, puisque, en effet, nous voyons les spirilles perdre, au 3<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine, leur mobilité au bout de 52 minutes et de 1 h. 25, tandis qu'au 5<sup>e</sup> jour nous les trouvons encore mobiles au bout de 9 h. Chez la même oie (oie n° 12) nous voyons les spirilles de la lymphe s'immobiliser au 1<sup>er</sup> jour, au bout de 5 h. 1/2, garder au contraire leur mobilité plus de 46 h. au 3<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine.

Si nous examinons le tableau de la longévité des spirilles dans le sang des plumes, nous voyons que, d'une façon générale, c'est au 5<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine qu'ils vivent le plus longtemps dans les gouttes suspendues, conservant leur mobilité 54 h., 40 h., 31 h., 16 h., 18 h., 21 h., à un moment où la disparition des spirilles du sang est presque complète; au contraire, nous les voyons périr, au 4<sup>e</sup> jour, au bout de 4 h. 1/2, 1/2 h., 40 minutes, alors que leur pullulation est à son maximum. La longévité des spirilles dans les gouttes suspendues est donc tout à fait indépendante de la période de la maladie et des chances de survie de l'animal. Par contre, il existe un rapport constant et facile à constater entre la longévité des spirilles et leur nombre; on peut affirmer que, d'une manière générale, plus le nombre des spirilles présents est considérable, moins leur survie est longue. Les spirilles, dans le sang lytique, vivent hors de l'organisme d'autant plus longtemps que leur nombre est plus faible; au contraire, c'est au moment où la pullulation dans le sang est la plus forte, c'est-à-dire vers le 4<sup>e</sup> jour, que la durée de leur vie dans les gouttes est moindre.

Aussi voyons-nous les spirilles se conserver très longtemps



dans le sérum sanguin, quand leur nombre y est faible; nous les avons vus vivre 43 h. dans du sérum du 2<sup>e</sup> jour, 48 h. dans du sérum du 3<sup>e</sup> jour, 39 h. dans du sérum lytique du 5<sup>e</sup> jour. Il semble donc qu'en dehors de l'organisme leur immobilisation plus ou moins rapide, comme aussi leur tendance plus ou moins grande à s'agglomérer en pelotons, soient sous la dépendance de quelque substance toxique sécrétée par eux.

Somme toute, nous retrouvons ici la confirmation de ce que nous avait enseigné l'observation si instructive *in vitro* du sang des poussins atteints de spirillose. Ici et là la longévité des spirilles hors de l'organisme est en raison inverse de leur nombre. D'une façon générale, on peut constater que l'immobilisation se fait, à 37°, dans un temps 2, 3 et 4 fois plus court qu'à la température du laboratoire.

A côté de ces phénomènes d'immobilisation, d'agglomération et même de bactériolyse, phénomènes d'ordre absolument artificiel, et sans le moindre rapport avec l'état de résistance de l'organisme, on peut, fréquemment, constater, dans le sérum recueilli *in vitro*, l'apparition de propriétés bactéricides d'autant plus énergiques que le sang a été recueilli à un moment plus rapproché de la lyse. En voici un exemple: à une goutte de sang riche en spirilles on ajoute une goutte de sérum provenant de l'oie n° 8, avant sa lyse: les spirilles gardent leur mobilité environ 3 heures. Au même sang, nous ajoutons du sérum recueilli chez la même oie, à la fin de sa lyse: au bout de 1/2 heure, tous les spirilles sont immobilisés dans le mélange, en partie agglomérés en pelotons; parmi ces derniers, plusieurs subissent la dégénérescence granuleuse. L'action bactéricide du sérum n'est pas ici niable. Mais l'apparition de ces propriétés au moment de la lyse est loin d'être un phénomène constant.

En voici un exemple: on prélève à l'oie n° 19, au 3<sup>e</sup> jour de l'infection sanguine, du sang pour en préparer des gouttes suspendues: les spirilles y sont immobilisés au bout de 3 h. 50'. Si à ces gouttes nous ajoutons du sérum de l'oie n° 18, ayant terminé sa lyse, on constate que les spirilles sont encore bien mobiles au bout de 5 heures. Dans ce cas, la survie a été plus longue au contact du sérum lytique que dans le sang de 3 jours; l'apparition dans le sérum de propriétés bactéricides est donc

soumise aux mêmes variations que la plupart des phénomènes observés *in vitro*.

Nous n'insisterons pas davantage sur cette partie de nos expériences. M. Gabritchewsky dans son travail minutieusement établi la présence de substances bactéricides dans le sérum lytique. Nous renvoyons donc à ses observations, en insistant seulement sur le peu de constance de ces phénomènes.

De l'ensemble de ces expériences, il résulte que les spirilles du sang ou de la lymphe meurent dans les gouttes suspendues, s'y agglomèrent et s'y désagrègent, sans que l'on puisse le moins du monde établir une relation entre l'intensité de ces phénomènes d'une part et l'évolution de la maladie de l'autre; ils sont au contraire étroitement liés au nombre des spirilles, et apparaissent plus vite à 37° qu'à une température plus basse.

Quant au pouvoir bactéricide du sérum, il croît souvent, mais non constamment, à mesure que l'on se rapproche de la fin de la crise. Tous les phénomènes que nous venons d'étudier, parfaitement réels et faciles à constater, ne sont cependant que des productions artificielles, opérées en dehors de l'organisme. Plus en effet l'on se rapproche des conditions physiologiques, telles qu'elles sont réalisées chez l'être vivant, plus ces phénomènes s'atténuent. La démonstration en est aisée à donner si l'on fait l'expérience suivante :

Arrachons à une oie malade une plume jeune de l'aile, contenant à l'intérieur de sa hampe la papille conjonctive vasculaire qui renferme, au milieu d'un lacs de capillaires sanguins, de grands espaces lymphatiques gorgés de lymphe. On prépare une goutte suspendue avec le sang qui vient sourdre à l'extrémité de la plume et l'on compare de temps en temps l'état des spirilles contenues dans la goutte à celui des spirilles demeurés dans la plume, plume et goutte étant maintenues dans des conditions de température identiques. Il est aisé de s'assurer que la survie des spirilles est infiniment plus longue dans la plume que dans la goutte; la plume réalise en effet un ensemble de conditions infiniment plus voisines des conditions normales, que la chambre humide. En voici un exemple :

Oie n° 21. — Au 1<sup>er</sup> jour de l'apparition des spirilles dans le sang on arrache une plume de l'aile et l'on prépare une goutte suspendue avec le sang exsudé. Spirilles très nombreux et très



mobiles. Ils sont immobilisés dans la goutte au bout de 5 h. 1/2 : à ce moment ils sont extrêmement mobiles à l'intérieur de la plume ; 24 heures plus tard ils ne présentent encore dans la plume aucun symptôme d'immobilisation : la survie a été donc ici 5 ou 6 fois plus longue que dans la goutte.

On recommence chez l'oie n° 21 la même expérience au 4<sup>e</sup> jour de l'apparition des spirilles. Les spirilles sont immobilisés dans la goutte au bout de 1/2 heure ; 6 heures plus tard on prélève à la plume une nouvelle goutte ; les spirilles y grouillent et sont fort mobiles ; l'immobilisation est complète au bout de 40 minutes. Deux heures plus tard, la plume ne renferme que des spirilles bien mobiles, etc.

Cet exemple prouve bien que si les spirilles périssent dans la goutte, cela ne tient nullement à un état spécial des humeurs chez l'animal vivant, puisqu'au même moment, à l'intérieur de la plume, les microorganismes ne présentent ni immobilisation ni agglutination.

Cette expérience, bien des fois renouvelée, nous a fourni des résultats constants. Si l'on fait l'expérience à 37°, l'ensemble des phénomènes d'immobilisation marche plus rapidement ; tous les spirilles sont immobiles par exemple au bout de 1/2 heure dans la goutte, au bout de 6 heures dans la plume.

## V

### RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1°) Les conditions de milieu dans lesquelles vivent les spirilles conservés *in vitro* ne ressemblent en rien aux conditions biologiques réalisées dans l'organisme vivant ; d'autre part il n'existe aucune relation entre la longévité des spirilles *in vitro* et les chances de survie de l'animal malade. Nous avons vu les spirilles périr en moins de 1 heure dans le sang recueilli au plus fort de l'infection ; nous les avons vus survivre 2 et 3 jours dans le sang recueilli à la fin de la lyse. Ce fait, maintes fois observé, est incompatible avec l'hypothèse de l'apparition de propriétés bactéricides dans le sang au moment où les spirilles disparaissent. Enfin nous avons constamment observé que dans le sang des jeunes poussins, recueilli peu de temps avant la mort, les

spirilles meurent et se désagrègent presque instantanément, alors qu'ils pullulent à l'aise dans l'organisme vivant. Ces jeunes animaux périssent sans exception avec une quantité colossale de spirilles dans le sang, et c'est justement dans ce sang que se manifestent, *in vitro*, les propriétés bactériolytiques les plus énergiques. Nous avons, comme M. Gabritchevsky, vu les microorganismes « fondre » sous nos yeux dans les gouttes suspendues; mais cela, jamais dans un sang lytique, toujours au contraire dans un sang où la pullulation des spirilles était à son maximum.

Quant à l'assimilation établie entre les phénomènes de bactériolyse observés *in vitro* chez les spirilles et le « phénomène de Pfeiffer », nous ne pouvons l'accepter. Le phénomène de Pfeiffer n'est point un phénomène de bactériolyse; il ne se produit pas chez des vibrions morts; c'est un acte essentiellement biologique, une transformation morphologique du vibron vivant, qui, dans des conditions déterminées, peut ensuite revenir à sa forme primitive; au contraire, la désagrégation des spirilles est un phénomène nécrotique, qui se produit chez des microorganismes morts. Jamais nous ne l'avons vu se produire chez l'animal vivant, dans le sang en circulation.

2°) Il existe un rapport constant entre le nombre des spirilles et leur longévité *in vitro*, leur résistance étant, dans ces conditions, en raison inverse de leur nombre.

C'est au début de l'infection et vers la fin de la lyse que leur survie est la plus longue dans les gouttes suspendues; c'est au moment du maximum de leur pullulation qu'ils meurent le plus vite, et cela, non seulement chez les oies vieilles qui parcourent le cycle de la maladie tout entier, mais aussi chez les oies jeunes qui meurent avant la fin de la lyse, et chez les jeunes poussins qui meurent en pleine infection. Il est probable que dans ce cas les spirilles sont tués par quelques produits solubles qu'ils sécrètent autour d'eux. C'est sous l'influence des mêmes conditions que se produisent les phénomènes de pelotonnement et de bactériolyse. Il suffit souvent de diluer le sang où fourmillent les spirilles pour étendre considérablement leur survie. C'est ainsi que dans un cas il nous est arrivé de prolonger la vie des spirilles de plusieurs heures en ajoutant à la goutte suspendue du sérum sanguin provenant d'une oie parvenue à la fin de sa lyse.



3°) La remarque, qui termine le paragraphe précédent, nous démontre que si, dans bien des cas, on peut voir apparaître des propriétés bactéricides dans le sang lytique conservé *in vitro*, c'est là un phénomène qui est loin d'être constant. Nous avons vu le sérum lytique d'une oie, porté au contact de spirilles bien vivants, les tuer en 1/2 heure, tandis que le sérum fourni par cette même oie, avant sa lyse, les laissait vivre plusieurs heures. Mais nous avons pu également faire l'observation inverse. Et d'ailleurs le fait que les spirilles vivent plusieurs jours dans le sang des plumes, après la terminaison de la lyse, prouve bien combien cet état bactéricide des humeurs lytiques est inconstant et variable. Si le sang renfermait réellement au moment de la lyse des substances bactéricides, on verrait les spirilles s'y agglutiner et y périr *in vitro*, d'autant plus rapidement que la lyse serait plus avancée. Or, c'est exactement le contraire qui a lieu.

4°) Immobilisation extra-cellulaire des spirilles, agglomération en peloton, bactériolyse, tous ces phénomènes sont parfaitement réels, faciles à constater *in vitro*, mais *in vitro* seulement. Rapprochons-nous des conditions normales, physiologiques, l'énergie des ces manifestations diminue. C'est ainsi que la survie des spirilles est infiniment plus longue dans une plume arrachée à l'aile que dans une goutte suspendue préparée avec du sang emprunté à cette même plume.

Au contraire, l'observation directe de l'organisme vivant nous montre que rien de pareil ne s'y passe. Les spirilles dans le sang circulant conservent leur mobilité depuis le moment de leur apparition jusqu'à la fin de la lyse; ils conservent également la propriété de se reproduire.

Jamais, ni dans le sang, ni dans les organes, ni dans les frottis, ni dans les coupes, nous n'avons observé de bacilles morts, dégénérés, en dehors des cellules; jamais nous n'avons pu constater la formation de pelotons; jamais nous n'avons rencontré de phénomènes de bactériolyse; jamais non plus nous n'avons pu voir sur des coupes les formes en chapelet décrites par M. Mamourowsky et par M. Gabritchewsky. L'observation directe des faits démontre à l'évidence que les phénomènes observés dans les gouttes suspendues diffèrent totalement de ceux qui se passent dans l'organisme vivant. Il n'est

pas permis de conclure des premiers aux seconds. M. Gabritchewsky, après avoir déclaré que les phénomènes agglutinatifs ou bactériolytiques observés *in vitro* sont étroitement liés à telle ou telle phase de la maladie (ce qui est certainement exagéré), ajoute « qu'il n'existe aucune raison pour expliquer ces phénomènes par des modifications *post mortem* du sang. » Il en existe une, au contraire, et bien simple : c'est que *jamais* il n'est donné d'observer de semblables manifestations dans l'organisme vivant. M. Gabritchewsky, qui recherche l'origine des phénomènes de bactériolyse dans la phagolyse, admet que *logiquement* des phénomènes analogues *doivent* se passer dans l'organisme où tant de leucocytes périssent perpétuellement dans le sang. Nous ne pouvons admettre cette dernière affirmation. Jamais on ne rencontre dans le sang de leucocytes dégénérés ; nous savons au contraire que tout leucocyte affaibli est aussitôt saisi et détruit par les grands macrophages de la rate, du foie, des ganglions lymphatiques et de la moelle des os. La croyance à une destruction perpétuelle de leucocytes dans les humeurs est une hypothèse gratuite que contredit tout ce que nous savons de la lutte des cellules entre elles. La phagolyse observée dans la production du phénomène de Pfeiffer est une production tout artificielle qui cesse précisément de se produire dès que les leucocytes se mettent à affluer.

5.) Les spirilles ne se détruisent pas dans le sang. On n'y observe jamais d'englobement par les phagocytes. La destruction s'opère dans la rate, à l'intérieur des grands macrophages de cet organe. Les polynucléaires n'interviennent jamais, comme dans la fièvre récurrente, et c'est peut-être à l'abstention des microphages qu'est dû ce fait paradoxal de la mort, chez un animal débarrassé de ses germes pathogènes. Cette destruction des spirilles dans la rate commence dès le début de l'infection sanguine ; elle augmente d'intensité à mesure qu'approche la fin de la crise ; l'adaptation progressive des phagocytes est rendue visible à l'œil de l'observateur par le nombre toujours croissant de vacuoles digestives qui s'y forment à mesure que le dénouement approche.

Les spirilles libres de la rate et de la moelle des os conservent jusqu'à la fin leur mobilité. Là non plus on n'observe jamais de destruction extra-cellulaire des microbes.



La conclusion de tout cela c'est que l'on ne peut attribuer à des influences humorales la destruction des spirilles chez l'animal vivant ; les propriétés bactéricides ne se développent dans le sérum qu'en dehors de l'organisme, et cela avec une énergie d'autant plus grande que l'on s'éloigne davantage des conditions physiologiques. D'ailleurs l'apparition de ces propriétés dans le sérum est aujourd'hui un fait bien connu chez les animaux de laboratoire vaccinés contre le choléra, le vibrio Metchnikowii, le streptocoque, le rouget du porc, etc. ; l'on sait également qu'ils ne correspondent à rien d'analogue dans les tissus de l'animal malade. Entre les phénomènes observés *in vitro* et ceux qui s'accomplissent chez l'être vivant, aucun rapport n'existe ; c'est là une vérité prouvée aujourd'hui par des observations infiniment nombreuses ; la méconnaître c'est s'exposer à errer indéfiniment, sans progrès possible, dans l'explication des actes de la vie cellulaire.

## EXPLICATION DES PLANCHES V ET VI

N<sup>o</sup> 1). — Sang d'oie avant le début de la lyse. (a) Spirilles en segmentation.

N<sup>o</sup> 2). — Sang d'oie vers la fin de la lyse. — (a) Spirilles en segmentation.

N<sup>o</sup> 3). — Coupe d'un sinus de la rate chez un très jeune poussin mort avec une masse de spirilles dans le sang.

N<sup>o</sup> 4). — Sang d'oie avant le début de la lyse. Cas à spirilles très nombreux ; formation d'écheveaux.

N<sup>o</sup> 5). — Macrophages contenant des spirilles. Frottis de rate fait avant la fin de la lyse.

N<sup>o</sup> 6). — Frottis de moelle osseuse un peu avant la fin de la lyse. Il n'y plus à ce moment qu'un très faible nombre de spirilles dans le sang. — (a) Spirilles en segmentation.

N<sup>o</sup> 7 et n<sup>o</sup> 8). — Coupes des sinus de la rate chez des oies au début de la lyse. Spirilles nombreux dans le sang. Macrophages renfermant des spirilles à l'intérieur d'énormes vacuoles.

N<sup>o</sup> 9). Grand sinus de la rate tout au début de la lyse. Les spirilles sont encore nombreux dans le sang.

N<sup>o</sup> 10). — Grand sinus de la rate à la fin de la lyse. Le sinus est gorgé d'hématies. Les spirilles ont complètement disparu du sang.

# LES MICROBES DANS LES RÉGIONS ARCTIQUES

Par le Dr LEVIN, de Stockholm.

---

Dans la littérature des expéditions arctiques, les rapports concernant la bactériologie sont assez rares. Les recherches spéciales du Dr Nyström<sup>1</sup>, médecin de l'expédition de la *Sofia*, en 1868, sont presque les seules faites sur la fermentation et la putréfaction au Spitzberg. Sur l'avis de Pasteur, — qui déjà avait commencé des expériences sur les bactéries de l'air des sommets de la Suisse, et auquel Nyström avait demandé des conseils sur la meilleure méthode à employer pour son travail — Nyström avait emporté des infusions de viande, de levure, ainsi que de l'urine conservées dans des ballons stérilisés. Ces ballons furent ouverts plus tard sur différents points du Spitzberg, afin que le contenu fût exposé ainsi aux microorganismes de l'air. Le résultat de ces expériences, et de quelques autres qui ne semblent pas avoir été complètement terminées, fut que la putréfaction et la fermentation, ou tout autre changement de cette nature, firent tout à fait défaut, ou ne se produisirent que longtemps après le moment où on les aurait constatées dans des régions non polaires ; on peut trouver l'explication de ce fait dans le très petit nombre de microbes contenu dans l'air des pays arctiques. On ne fit d'ailleurs aucun examen microscopique du contenu des ballons, et on doit ajouter que les procédés de stérilisation qu'on employait alors ne répondent pas complètement aux exigences que nous avons aujourd'hui.

Nansen<sup>2</sup>, dans son ouvrage *Fram sur les mers polaires*, dit au sujet de la vie organique dans les flaques sur les glaçons flottants : « Ces flaques d'eau douce sont produites au printemps sur la glace par la neige fondue : le fond est composé de petits

1. 1868. C. NYSTROM, Om fäsnings och forruttelseprocesserna på Spetsbergen, Upsala, Läkareförenings förhandlingar, t. IV.

2. 1897. NANSEN, *Fram över polar nufvet*, page 563.



trous ronds (smalthalor) de quelques centimètres de largeur et un plus plus profonds que larges. » — Nansen dit qu'on a constaté au microscope que la vase brune trouvée dans ces « smalthalor » contenait non seulement des diatomées et des algues isolées, mais encore des infusoires et des flagellés; j'y ai même trouvé des microbes, ce qui prouve que ces régions elles mêmes n'en sont point exemptes.

Johansen<sup>1</sup> dit, dans son livre sur le voyage de Nansen, que le Dr Blessing put cultiver des bactéries qu'il avait trouvées dans de la vase où étaient des petits chiens morts. Par contre, dans l'air, il avait en vain cherché des bactéries.

Plusieurs savants et médecins, ayant fait partie d'expéditions dans les pays polaires, vantent toujours dans leurs rapports l'air si sain des pays arctiques, qui ne contient pas ces terribles germes de contagion appelés bactéries. Cette opinion a été émise pour la première fois par le professeur Nordenskiöld<sup>2</sup>, dans les mémoires qu'il a publiés sur son expédition au Spitzberg en 1864 : une citation de cet ouvrage me semble d'un intérêt tout particulier, puisqu'elle donne le témoignage éloquent d'une expérience qui concerne la pureté de l'air et l'absence de bactéries pathogènes dans l'air des pays polaires. En général, on ne prend pas de refroidissements au Spitzberg, quoique on soit journellement exposé à des changements de température qui dans les pays plus méridionaux auraient infailliblement tôt ou tard des suites sérieuses ; et on peut certainement affirmer qu'il est impossible de trouver sur la surface du globe un climat plus salubre et plus favorable à la santé que celui du Spitzberg en été. Pendant les trois étés où les expéditions suédoises ont séjourné dans ces parages, on n'a eu sur le navire aucun cas de diarrhée, de fièvre intermittente, de catarrhe ou d'aucune autre maladie.

C'est à l'absence de matières contagieuses dans l'air qu'on doit attribuer ces conditions si exceptionnellement favorables au point de vue hygiénique. Ces innombrables germes, qui, dans les pays plus méridionaux, remplissent l'air, diminuent sa transparence et causent, à ce qu'on croit, les épidémies qui dévastent les paradis de la terre, manquent absolument dans

1. JOHANSEN. Med Nansen på 86° 44', page 95.

2. 1867. A. E. NORDENSKIÖLD, Svenska expeditionen till Spetzbergen och Jan Mayen, page 74.

l'atmosphère polaire. Quoique de rapides changements de la température du corps semblent disposer à la fièvre, elle ne peut pas se développer par le fait même du manque absolu de germes, et nous ne serions nullement étonnés si dans, l'avenir, beaucoup de malades étaient envoyés dans ces régions septentrionales pour y regagner les forces et la santé.

Une longue expérience a établi que l'air des montagnes était particulièrement pur et libre de germes microbiens : aussi a-t-on établi de nombreux *sanatoria* sur les montagnes de la Suède, de la Norvège, du Tyrol, de la Suisse.

L'air des pays polaires et celui des hautes montagnes devaient donc, à en juger par l'absence de maladies infectieuses dans ces deux régions, se ressembler encore sur ce point que l'air des pays polaires devait être comme l'autre presque libre de bactéries. C'est pour en fournir une preuve scientifique que j'ai pris part l'été passé à l'expédition polaire de Natthorst, sur l'*Antartic*, et que j'ai fait des expériences sur l'air dans les régions arctiques.

Grâce à l'intérêt avec lequel le chef de l'expédition, le professeur Natthorst, a suivi mes travaux, grâce aussi à la grande obligeance avec laquelle on m'a aidé à transporter mon très lourd appareil aux endroits que je croyais propices, j'ai pu faire des expériences sur l'air dans vingt endroits différents.

Mes expériences ont commencé à Beeren Eiland et se sont continuées au Spitzberg et sur la terre du roi Charles aussi souvent que l'occasion s'en est présentée. L'appareil était monté ordinairement sur un point élevé, au pied d'un glacier, sur une haute falaise ou sur un rocher au bord de la mer. Quelquefois même, nous avons pris les échantillons à bord du navire. La méthode que j'ai employée a été celle de Pétri modifiée par Miquel. La filtration s'est faite soit sur de la poudre de sucre, soit sur un mélange de sucre pulvérisé et de sel marin, soit enfin avec du coton de verre. Ces filtres étaient adaptés à un appareil construit spécialement pour cet usage, et qui permettait d'aspirer une grande quantité d'air. La quantité totale que j'ai filtrée a été de 21,600 litres. A chacune de ces stations on a recueilli une proportion d'air qui variait suivant la résistance des filtres et la durée du temps où l'appareil fonctionnait, mais qui restait en moyenne de 4,000 litres. En général, chaque expé-

rience durait de 4 à 5 heures. J'avais l'habitude d'employer un double filtre; le premier recueillait les germes, le second permettait de s'assurer que tous les microbes avaient été arrêtés. Comme dernier contrôle, il y avait, derrière la seconde partie du filtre, une bourre de ouate stérilisée. Lorsque l'aspiration était terminée, les filtres étaient mêlés à de la gélatine liquide dans laquelle, quand elle s'était solidifiée, les microbes pouvaient développer leurs colonies. Quand le filtre était composé de sucre et de sel, on le faisait fondre dans un volume suffisant de gélatine liquéfiée. Dans toutes ces expériences, on ne put qu'une seule fois trouver des bacilles, et ce fut dans une épreuve faite à bord de l'*Antartic*, dans le port de Beeren Eiland. Cette expérience ne donna du reste que trois colonies fort rapprochées les unes des autres sur une des plaques. A en juger d'après le rapprochement de ces colonies, on est tenté de croire qu'un grain de poussière du navire s'était fourvoyé dans la gélatine, et y avait apporté les trois bacilles générateurs des colonies en question. Le filtre de contrôle était stérile dans cette occasion comme dans toutes les autres, de même que la bourre de ouate stérilisée mentionnée plus haut. Sur cinq épreuves, on a constaté un très petit nombre de colonies de moisissures, qui provenaient presque sûrement de l'air filtré, puisqu'elles étaient enveloppées de gélatine; excepté dans une épreuve cependant qui contenait huit colonies de moisissure dans 1,700 litres d'air, et dans une autre 27 colonies dans 740 litres. Dans ces deux occasions, les colonies étaient sur la surface et ne se produisirent qu'au bout de 14 jours environ.

Lorsque, sur une quantité d'air aussi grande que 20,000 litres, pris sur plusieurs points différents, on n'a trouvé que quelques moisissures, on est en droit de supposer qu'on a donné la preuve scientifique de la grande pureté de l'air et de sa pauvreté en microorganismes dans les régions arctiques, et que cette preuve scientifique s'accorde complètement avec l'expérience pratique.

J'ajouterai encore mes propres observations pour montrer combien cette atmosphère sans germes et sans poussière contribue à la salubrité extraordinaire des régions arctiques. Sans avoir eu de catarrhes du nez, de la gorge ou de la poitrine, si communs quand on sort par les temps humides, j'ai pu dans les



régions arctiques marcher plusieurs jours avec des habits et des souliers mouillés, m'exposer aux ouragans et à un froid de plusieurs degrés au-dessous de zéro dans des vêtements mouillés, m'étendre et dormir pendant des heures sur le sol humide sans aucune conséquence fâcheuse. Pendant les quatre mois que nous avons séjourné dans les régions polaires, nous avons tous joui de la plus excellente santé. Nous étions en tout 28 hommes, et nous n'avons eu qu'un seul cas de maladie : c'était un *icterus catarrhalis* avec *gastroenteritis* d'une nature très bénigne. Au bout de huit jours de diète et de laxatifs, notre malade était complètement remis. Il va sans dire que les écorchures et les petites blessures aux pieds et aux mains étaient plus fréquentes. J'ai trouvé que ces petites blessures, surtout celles des mains, étaient assez longues à guérir; sans en avoir de preuves positives, je crois cependant pouvoir dire que l'eau salée retardait dans une certaine mesure la guérison.

La cuisine bien faite et soigneusement approvisionnée de l'*Antartic*, ainsi que l'aménagement intérieur du navire aidaient sans aucun doute à la bonne santé générale. Nous avions beaucoup de place, et tout pouvait être lavé et nettoyé facilement. Or notre capitaine était un ardent apôtre de la propreté, et comme tout le monde le sait, « laver le pont » est un des plus grands plaisirs du marin. Quant à la quantité comme à la qualité des vivres, notre chef avait profité de l'expérience que le professeur Almquist avait acquise pendant l'expédition de la *Vega* autour de l'Europe et de l'Asie en 1878-1880. Les nombreux conseils vraiment pratiques qu'il donne dans son compte rendu nous ont épargné bien des ennuis.

On voit par ce qui précède la preuve incontestable de la salubrité des régions arctiques, que Nordenskiöld proclamait déjà en 1867, et que bien d'autres depuis ont signalée avec raison. On voit aussi que les explications scientifiques qu'il prévoyait ont été reconnues exactes quand elles ont été soumises au contrôle des méthodes bactériologiques.

J'ai fait aussi, durant l'expédition de cet été, un grand nombre d'expériences sur la quantité de microbes contenus dans les différentes espèces d'eau : eau prise de la surface de la mer, eaux des ruisseaux découlant des glaciers, et autres eaux courantes. J'ai expérimenté aussi avec la glace des glaciers de la

mer et des « smalthalor » qu'on y trouve, avec la neige, ou ordinaire, ou verte, ou rouge; soit avec de l'argile rouge, jaune ou brune ou avec les dépôts formés sur les pierres qui bordent les ruisseaux. A l'aide d'un instrument spécial, j'ai fait 78 expériences avec l'eau prise à la surface de la mer. L'appareil comprenait d'abord une gaine de bois avec un couvercle et percée de petits trous; dans cette gaine se trouvait un tube en verre d'une contenance d'environ 20 c. c.; ce tube avait un col très étroit fermé par une bourre de ouate. Au fond de la gaine, un poids forçait l'appareil à plonger. Le tout était entouré d'un papier filtré stérilisé à 115°. Pour s'en servir, on ôtait le papier avec toutes les précautions nécessaires, puis l'appareil était lancé dans la mer du côté où l'eau n'avait pas encore été mise en contact avec le navire. L'appareil était immédiatement submergé et on le retirait aussitôt que les bulles d'air avaient disparu.

Le tube était alors à moitié ou aux trois quarts plein d'eau, et dans le goulot il y avait une petite colonne d'eau qui empêchait les poussières de pénétrer dans le liquide. On y mettait du reste de suite la bourre d'ouate. Je me suis servi aussi d'un appareil construit plus tard sur le même principe, mais avec quelques modifications, et qui me permettait de prendre des échantillons de 700 c. c. Cet appareil a, sur celui que j'ai décrit précédemment, l'avantage que les trous par lesquels l'eau doit entrer forment un cercle entre le deuxième et le troisième tiers de la hauteur de la gaine, et empêchent ainsi un grain de poussière qui serait tombé sur le couvercle de pénétrer à l'intérieur de l'appareil.

Tous les échantillons qui ont été pris contiennent des bactéries, mais en très petite quantité. Leur nombre, par centimètre cube, est en moyenne d'une bactérie par 11 c. c., ce qui doit être considéré comme extraordinairement satisfaisant, quand on sait que l'eau de mer sur les côtes de Suède en contient ordinairement 700 par centimètre cube, que dans les tuyaux si bien aménagés de la ville de Stockholm l'eau contient encore 30 bactéries par centimètre cube, et qu'enfin l'eau de la Seine peut en contenir jusqu'à 600,000 par centimètre cube. Les espèces de bactéries trouvées dans les échantillons d'eau des pays arctiques, ne sont pas encore déterminées, mais il semble qu'on en peut

reconnaître seulement deux différentes espèces qui donnent des colonies caractéristiques dans la gélatine.

Mes expériences avec l'eau des glaciers, des ruisseaux, avec la neige, la glace et la neige fondue, etc., sont au nombre de 80. Ces échantillons, pris pendant des excursions ou de petites expéditions parties du bateau, ont été conservés dans de grands tubes en verre de 200 c. c., enveloppés de papier-filtre et stérilisés à 180°. Lorsqu'on devait prendre les échantillons, on développait le papier sans toucher au tube, le bord du verre était chauffé au moyen d'une petite lampe à esprit-de-vin, et on faisait pénétrer l'échantillon, neige, eau ou terre dans le tube, après quoi la bourre de coton flambée était remise en place, et le tube enveloppé de nouveau dans son papier.

Le tube était déposé dans une boîte de fer-blanc, et de cette façon pouvait être transporté sans risques. On a pris également des échantillons dans des pipettes de Pasteur, qu'on fermait immédiatement au feu par les deux bouts. Ces expériences ont donné à peu près le même résultat que celles faites avec de l'eau de mer. Presque toutes contenaient des bactéries; pourtant si l'on considère seulement les espèces, la quantité de bactéries par centimètre cube a été plus grande que dans la série précédente, particulièrement pour la neige.

Les études ont offert un intérêt tout spécial en ce qui concerne les bactéries trouvées dans les « smälthaler ». Je n'ai malheureusement pu prendre que 12 échantillons de la vase brune, dont j'ai parlé en citant les observations de Nansen. Ces échantillons ont été recueillis dans des pipettes stériles, soit dans un seul et même trou, soit dans huit ou dix trous différents. Dans trois cas seulement, on put constater des bactéries, ou, pour mieux dire, une seule bactérie dans chaque épreuve, car une seule colonie s'était formée sur chacune des trois plaques de gélatine. Si l'on songe aux difficultés qui entourent les laboratoires bactériologiques faits sur la glace et après sur le navire, on ne peut s'étonner qu'il en résulte quelque cause d'erreur. A mon avis, ces « smälthaler » ne contiennent point de bactéries, ou tout au moins ils en contiennent si peu, que même les bactériologues exercés ne les retrouvent à l'examen microscopique qu'avec la plus grande difficulté.

Les échantillons d'eau de mer des grands fonds ont été



prélevés en même temps que s'exécutaient les travaux d'hydrographie. Nous avons obtenu des matériaux propres à l'étude bactériologique, principalement dans les sondages du « Svenska djupet » et à l'ouest jusqu'aux glaces du Groenland. Nous avons pris en tout environ 90 échantillons pendant l'été. On fermait à la lampe un des bouts d'un tube de verre très épais, d'un diamètre d'un centimètre, et long de 20 c. c.; l'autre bout était très effilé et formait une longue pointe recourbée. Le tube chauffé à 200° était fermé immédiatement, ce qui le rendait tout à la fois stérile et presque vide d'air. Il était attaché à l'appareil hydrographique, la pointe recourbée tantôt en haut, tantôt en bas suivant la construction de l'appareil; l'effilure recourbée était placée de façon qu'elle fût introduite dans le réceptacle destiné à l'échantillon d'eau à l'épreuve. Quand l'appareil commençait à fonctionner, le couvercle était refermé et la pointe brisée à un endroit rendu à dessin plus faible.

L'eau se précipitait dans le tube qui était à peu près vide d'air, le remplissait jusqu'à plus des trois quarts de sa hauteur; lorsqu'on remontait le tube, l'eau avait tendance à sortir, la pression diminuant au fur et à mesure que l'appareil se rapprochait de la surface de l'eau. On a eu la plupart du temps la preuve que l'eau contenue dans le tube était bien celle qui s'y était précipitée lorsque la pointe avait été brisée par le couvercle, car lorsque l'échantillon était pris dans de l'eau à une température inférieure à zéro, l'eau demeurée dans la pointe était gelée. Deux ou trois et même une fois quatre de ces tubes ont été attachés à la machine hydraulique, et chacun d'eux contenait de 20 à 25 c. c. d'eau. On a aussi employé des tubes d'un autre modèle, mais lorsque, pour une raison quelconque, on n'avait pu attacher aucun tube, je me contentais pour mes expériences d'aspirer, avec des pipettes stérilisées, l'eau contenue dans l'appareil explorateur. Pour nous assurer qu'on pouvait se fier aux échantillons puisés de cette façon autant qu'aux autres, nous les avons soumis à un contrôle; les résultats des deux expériences ont été identiques. On ne doit pas s'en étonner, car lorsqu'on descend l'appareil à 1,000 et même à 3,000 mètres de profondeur, il est naturel que la colonne d'eau qui lave le petit récipient de cuivre le débarrasse de toutes les impuretés qui auraient pu s'attacher à ses parois. Il n'y a pas de différence bactériologique à faire

entre les échantillons pris à de grandes profondeurs et ceux qui ont été pris à la surface de l'eau. Un échantillon de 51 c. c. d'eau, pris à 2,700 mètres de profondeur et d'une température de  $-1^{\circ},5$  contenait 39 colonies de bactéries dont 10 liquéfiantes et 29 rondes et blanches, ne liquéfiant pas, et un autre échantillon de 60 c. c., à la température de  $+3^{\circ}$ , pris à 25 mètres de profondeur, contenait 15 colonies.

Ces résultats ont été les mêmes sur divers points des mêmes parages, et montrent une plus grande quantité de bactéries dans les grands fonds qu'à la surface.

Quant aux espèces, en outre des bactéries déjà désignées, rondes ou en forme de bâtonnets, il y en a une troisième qui semble dominer dans l'eau profonde, et qui est en forme de spirille.

Je dois ajouter ici que de nombreux essais de cultures anaérobies ont eu un résultat négatif.

L'existence des bactéries est donc la même sous tous les rapports dans les grands fonds et à la surface de la mer, quoique dans les grands fonds la température descende souvent au-dessous de  $0^{\circ}$ . Les études biologiques faites par Fischer et par d'autres sur l'existence des bactéries à différentes températures ont fait supposer que les microbes en question ne pouvaient vivre à une température supérieure à  $50^{\circ}$  ni inférieure à  $+5^{\circ}$  C. Cependant Globig a démontré qu'il en existe qui se reproduisent à une température variant de  $50^{\circ}$  à  $70^{\circ}$ . Forster et après lui Jahn ont affirmé que certaines bactéries phosphorescentes peuvent vivre et se multiplier à  $\pm 0^{\circ}$ . Cette intéressante étude biologique a maintenant trouvé une confirmation de plus dans mes expériences, puisqu'elles montrent que tout un monde de bactéries existe à une température qui descend jusqu'à  $2^{\circ}$  au-dessous de zéro.

J'ajouterai encore que plusieurs séries d'expériences ont été faites sur les intestins et le contenu des intestins de plusieurs animaux, tels que les ours blancs, les phoques, les requins, les eiders, les pingouins, les frégates, les mouettes noires, les guillemots, les porsins, les actinies, les crevettes, etc. — Les échantillons pour les vertébrés étaient pris de la manière suivante : après avoir ouvert l'abdomen avec précaution, on stérilisait avec du fer rouge la surface d'une circonvolution de

l'intestin et, au moyen d'une pipette, on en aspirait le contenu, lequel était immédiatementensemencé dans du bouillon, sur gélose, et aussi dans de la gélatine. Pour les animaux invertébrés, on stérilise la surface au fer rouge, puis on puise dans l'intérieur, au moyen d'une pipette. On l'ensemence comme il vient d'être dit. Il résulte de toutes ces expériences que la plupart de ces animaux ont le contenu de l'intestin absolument stérile. Dans un ours blanc et dans deux phoques, on constata une seule espèce de bactéries, qui sur différents milieux nutritifs et au microscope ressemble au *bacterium coli commune*. Les intestins des oiseaux étaient complètement stériles, excepté ceux de la mouette à ailes blanches; plusieurs individus de cette espèce, tués dans différents endroits, en même temps que d'autres oiseaux qui devaient servir aux expériences bactériologiques, avaient tous sans exception des bactéries dans l'intestin, et toutes de même espèce à ce qu'il nous a semblé. Chez presque tous les animaux inférieurs de la mer, on a pu constater la présence de bactéries isolées.

On pourrait objecter que dans les cas où je n'ai pas obtenu de culture, cela tenait à ce que les milieux de culture employés ne convenaient pas. Mais l'examen du contenu intestinal, coloré aux couleurs d'aniline, ne montrait pas de bactéries.

Pour démontrer l'importance de ces études, j'ajouterai que, en 1880, Pasteur s'est posé la question de savoir si les bactéries de l'intestin étaient indispensables à la digestion. Nencki, puis Nuttall et Thierfelder ont montré que la digestion pouvait s'accomplir sans l'intervention des bactéries. Ces derniers auteurs ont pu, à l'aide de l'opération césarienne, prendre de jeunes cobayes qui furent déposés dans des cages stériles et fournis d'air et de nourriture stériles. Un des petits cobayes vécut 8 jours : à l'autopsie, on trouva l'intestin stérile. Ils ont donc conclu que la digestion se faisait sans bactéries. Une seconde série d'expériences a confirmé les résultats de la première, mais la troisième série n'a en aucune façon aidé à résoudre le problème. Il était cependant du plus grand intérêt de trouver dans la nature elle-même la preuve que la digestion, du moins chez un grand nombre d'animaux, pouvait s'effectuer sans l'aide des bactéries.

---



# LA CONSTITUTION DU POISON DIPHTÉRIQUE

PAR THORVALD MADSEN.

## PREMIÈRE PARTIE

---

(Travail du laboratoire de bactériologie médicale de l'Université de Copenhague.)

---

Les nombreuses tentatives faites pour découvrir la composition chimique des poisons bactériens sont restées sans résultat, et il y a peu d'espoir, pour le moment, d'aboutir prochainement dans cette voie. Les seuls réactifs que nous possédions pour le poison de la diphtérie, par exemple, sont les symptômes apparents observés chez des animaux injectés avec cette toxine. Ce sont ces faits surtout qui ont déterminé M. Ehrlich à publier ses travaux sur la constitution du poison diphtérique, travaux qui nous font connaître des conceptions tout à fait originales et ouvrent une voie nouvelle pour l'étude des poisons bactériens<sup>1</sup>.

Le grand intérêt qu'ont éveillé ses travaux semble s'être porté principalement sur sa conception purement théorique de l'action des toxines sur l'organisme, sur sa théorie de l'immunité (*Seitenkettentheorie*); mais l'objet essentiel de ces mémoires, le travail colossal sur la constitution du poison diphtérique, n'a pas encore été, autant que je sache, l'objet d'aucune publication.

On s'expliquera pourtant assez facilement ce long silence en

1. Die Werthbemessung d. Diphtherieheilserums. *Klin. Jahrb.* 1897.  
Ueber die Constitution des Diphtheriegiftes. *Deutsche med. Wochenschr.* 1898.

tenant compte du nombre d'expériences nécessaires pour un tel travail et du temps qu'il faut pour suivre les variations de la toxicité et du pouvoir fixateur des poisons diphtériques, variations qui correspondent à leur différenciation progressive. Seuls, les laboratoires dans lesquels on a procédé depuis des années déjà à des déterminations exactes des poisons diphtériques, peuvent aborder une telle étude.

Le laboratoire de bactériologie médicale de l'Université de Copenhague se trouve précisément dans ce cas, et c'est dans son service de sérothérapie qu'il m'a été possible d'exécuter des recherches sur les deux poisons mentionnés dans un travail antérieur<sup>1</sup>, et dont les recherches contenues dans ce mémoire ne sont qu'une suite.

Quatre poisons diphtériques ont fait l'objet des recherches qui vont suivre. Ils ont été retirés des cultures des bacilles diphtériques dans du bouillon de veau ordinaire. Les cultures ont été filtrées après trois semaines d'étuve à 37° (les poisons *A* et *B* sur porcelaine, les poisons *C* et *D* sur papier), le liquide filtré a été émulsionné avec du toluol, puis conservé à l'abri de la lumière et à une température d'environ 15° sous une couche de toluol.

Les expériences ont été faites d'après la méthode de M. Ehrlich et enregistrées, autant que possible, sous la même forme que celle indiquée par lui.

Ensuite, me basant sur les résultats de mes expériences, je me suis efforcé de donner un résumé critique du travail de M. Ehrlich, et j'indique les modifications et les additions que mes observations m'autorisent à y faire.

M. Ehrlich a bien voulu me prêter son très précieux concours pour ces travaux; je lui dois non seulement des quantités abondantes des produits titrés de son laboratoire, mais aussi un grand nombre de renseignements précis et instructifs.

Pour faciliter la lecture de ces expériences, je commencerai par un résumé succinct des deux mémoires de M. Ehrlich, me bornant toutefois à ce qui a trait à la constitution du poison diphtérique.

1. TH. MADSEN. Ueber Messung der Stärke des antidiphtherischen Serums. *Zeitschr. f. Hyg.* 1897.

## I

Notre unité de mesure pour le poison diphtérique est l'*unité de toxine*  $T$ , c'est-à-dire la plus petite dose de toxine sûrement mortelle en 4 ou au plus 5 à 6 jours pour un cobaye de 250 grammes.

L'unité antitoxique, ou l'*unité immunisante* (I) est la quantité de sérum qui, par mélange *in vitro*, neutralise complètement 100 unités de toxine.

De nombreuses expériences ont fait voir à M. Ehrlich que les relations entre le poison diphtérique et le sérum antidiphtérique sont beaucoup plus complexes qu'on ne le supposait de prime abord.

Un exemple nous facilitera beaucoup l'exposé des observations d'Ehrlich.

Admettons un poison diphtérique dont (T) soit égal à 0,01 c. c., alors d'après notre définition (I) doit saturer 100 (T), c'est-à-dire 1 c. c. La quantité de poison qui est neutralisé par (I) est appelé par M. Ehrlich *Limite 0* ( $L_0$ ). (I) +  $L_0$  est donc un mélange tout à fait neutre, ne contenant ni de la toxine libre ni de l'antitoxine libre : ce mélange reste complètement sans effet sur les animaux. En ajoutant à ce mélange 1 (T) on devrait supposer qu'on atteindra une autre limite, *Limite +* ( $L_+$ ) représentant une quantité de liquide qui, mélangé avec (I), contiendrait 1 (T) libre. Le mélange (I) +  $L_+$  représenterait donc exactement une dose mortelle pour cobaye.

1. Comme, sous le nom primitif de *toxine diphtérique*, on désigne tantôt le poison spécifique du bacille de la diphtérie, tantôt le liquide qui le tient en solution ; j'ai préféré, pour éviter des malentendus, réserver le nom de *toxine* à la substance toxique non modifiée, et j'appellerai *poison diphtérique* l'ensemble du liquide, c'est-à-dire le bouillon de culture complet contenant en solution la toxine libre et toutes ses modifications.

Dans le même ordre d'idées, il est important d'établir une distinction entre l'*unité de toxine* et la *dose minima mortelle*.

L'*unité de toxine* est la plus petite quantité de toxine proprement dite, nécessaire pour tuer un cobaye de 250 grammes en 4 jours environ.

La *dose minima mortelle* est la quantité de liquide, de *poison diphtérique*, contenant une unité de toxine libre.

Les auteurs allemands emploient souvent pour indiquer un cobaye de 250 grammes l'abréviation :  $M^{250}$ , et pour indiquer la dose minima mortelle pour un tel cobaye :  $\dagger M^{250}$ . En français on pourrait écrire ce dernier signe  $\dagger C^{250}$ .

J'emploierai dans mon travail les abréviations suivantes :

$T$ , unité de toxine. — (T), dose minima mortelle

I, unité antitoxique. — (I) liquide contenant I en solution.



On aurait donc, pour ce poison, les « constantes » suivantes :

$$\begin{aligned} (T) &= 0.01 \text{ c. c.} \\ L_+ &= 1.01 \text{ c. c.} = 101 (T) \\ L_0 &= 1.00 \text{ c. c.} = 100 (T) \\ \hline \text{Diff. } (D) &= 0.01 \text{ c. c.} = 1 (T) \end{aligned}$$

En réalité, on trouve toujours que pour obtenir  $(L_+)$ , il faut ajouter à  $(I) + L_0$  non pas 1 (T), (qui ne produirait qu'un œdème), mais beaucoup plus, par exemple 101 (T). Les « constantes » seraient donc :

$$\begin{aligned} (T) &= 0.01 \text{ c. c.} \\ L_+ &= 2.01 \text{ c. c.} = 201 (T) \\ L_0 &= 1.00 \text{ c. c.} = 100 (T) \\ \hline D &= 1.01 \text{ c. c.} = 101 (T) \end{aligned}$$

Dans les 101 (T) ajoutées, il n'y a donc qu'une seule (T) qui a pu produire ses effets toxiques et tuer un animal dans le temps déterminé. Il semble que les 100 (T) qui restent ont été fixées d'une façon telle qu'elles ne produisent pas d'effet.

Des phénomènes analogues ont été observés dans tous les poisons étudiés jusqu'à présent.

Pour expliquer le fait qu'une partie du poison semble disparaître de cette façon, M. Ehrlich suppose qu'un bouillon de culture diphtérique contient, en outre de la *toxine spécifique*, des *toxoides*, c'est-à-dire des modifications de la *toxine* qui ont perdu leur pouvoir de tuer les animaux, mais ont gardé celui de fixer l'antitoxine.

Partant de l'hypothèse que les toxines et les antitoxines se neutralisent mutuellement suivant les lois des équivalents, M. Ehrlich admet que, si une unité de toxine fixe une certaine quantité d'antitoxine, cette unité de toxine modifiée en toxoïde fixera exactement la même quantité d'antitoxine. Donc, pour l'antitoxine, un équivalent de toxine (toxine équ.) sera toujours égal à un équivalent de toxoïde (toxoides équ.).

Les toxoides n'ont pas tous la même *avidité pour l'antitoxine*. On peut, *a priori*, subdiviser les toxoides en trois groupes :

1° Les *prototoxoides* qui ont une avidité plus grande pour l'antitoxine que la toxine;

2° Les *syntoxoides* possédant pour l'antitoxine une avidité égale à celle de la toxine;

3° Les *épitoxoïdes* ou *toxones* avec une avidité plus petite que celle de la toxine.

Nous verrons plus tard comment on peut montrer expérimentalement l'existence des deux premiers toxoïdes, que nous appellerons provisoirement tout court *toxoides*.

Maintenant, voyons si les phénomènes indiqués dans l'exemple précité peuvent nous expliquer l'existence des *toxones*<sup>1</sup>.

Si ce poison se composait de toxines et de toxones par parties égales, (I) + L<sub>0</sub> serait composé de : 100 toxine-antitoxine + 100 toxone-antitoxine<sup>2</sup>.

Qu'obtiendra-t-on en ajoutant à ce mélange complètement neutre un équivalent de toxine, ou plutôt une dose mortelle composée d'un équivalent de toxine et d'un équivalent de toxone?

Le résultat sera, dans ce cas, le même que celui qu'on obtiendrait en ajoutant un acide plus fort à un sel formé par un acide plus faible. La toxine, possédant une affinité plus forte pour l'antitoxine que la toxone, mettra cette dernière en liberté et se fixera elle-même à l'antitoxine devenue libre. — On aura donc :

401 toxine-antitoxine + 99 toxone-antitoxine  
 + 1 toxone libre (dégagée)  
 + 1 toxone libre (ajoutée).

Tant qu'il y aura, dans la combinaison, de l'antitoxine fixée à la toxone, la toxine ajoutée se substituera à cette dernière et sera fixée elle-même.

Quand toute la toxone sera mise en liberté on aura :

100 toxine-antitoxine (toxine d'origine).  
 400 — — (toxine ajoutée).  
 100 toxones (dégagées).  
 400 — (ajoutées).

Et ce n'est qu'en ajoutant à ce mélange encore 1 toxine-équ. qu'on aura (I) + L<sub>+</sub>, où (I) + L<sub>+</sub> = 200 toxines-antitoxines + 1 toxine libre + 201 toxones libres.

En supposant qu'un poison contient un nombre égal d'équivalents de toxine et de toxone, le phénomène indiqué précédemment s'expliquerait donc très bien. Les mélanges intermédiaires

1. Il sera expliqué plus tard pourquoi M. Ehrlich a substitué le nom de *toxone* à celui d'*épitoxoïde*.

2. C'est-à-dire 100 toxine-équ. fixés à l'antitoxine et 100 toxone-équ. fixés à l'antitoxine.

entre 100 t. + I et 201 t. + I ne sont pas neutres. Ils sont actifs en ce sens que leur injection produit des œdèmes d'autant plus graves que la proportion de toxine est plus grande — mais il faut arriver au mélange de 201 t. + I pour tuer l'animal en moins de 5 jours.

En analysant une série de poisons diphtériques à l'état frais et ensuite à différents moments de leur conservation, on trouve que la quantité de liquide toxique neutralisé par (I) restera toujours la même malgré l'affaiblissement progressif du pouvoir toxique de ce liquide. Ainsi, si par exemple 0,01 de sérum neutralisait 100 doses mortelles d'un poison contenues dans 1 c.c. de bouillon toxique, la même quantité, c'est-à-dire 0,01 c.c. de sérum, ne pourra toujours neutraliser que 1 c. c. de ce bouillon toxique, bien que ce 1 c.c. de ce bouillon ne contienne successivement, à la suite de l'affaiblissement de la toxine, que par exemple 50 ou 33 doses mortelles.

On a pu suivre cet affaiblissement progressif pour un certain nombre de poisons diphtériques, et on a constaté que leur toxicité baisse de moitié ou d'un tiers, *tandis qu'ils fixent toujours la même quantité d'antitoxine*

En examinant une série de poisons frais, ou conservés, M. Ehrlich a obtenu les nombres suivants :

33	} Moyenne 33,4	47,5	} Moyenne 50,9
32		54,4	
33,2			
33,4			
35,7			

Eu égard aux difficultés que présentent ces recherches, on peut représenter, tout en restant dans les limites de l'exactitude, les nombres trouvés par l'expérience, par les nombres  $\frac{1}{3}$  et  $\frac{1}{2}$  par rapport à 100.

Or, comme on a constaté avec certitude :

1° Que les poisons peuvent s'affaiblir beaucoup et cela en proportions simples;

2° Que leur pouvoir de fixer l'antitoxine est resté constant;

3° Que dans beaucoup de cas 1 (I) fixe une quantité de poison représentant 100 (T),

On est amené à admettre que les deux moyennes : 33, et 50, trouvées ne sont pas l'effet d'un simple hasard, mais résul-



tent du fait que les  $L_0$  des poisons en question contenaient à l'origine 100 (T), mais se sont différenciés plus tard suivant des proportions simples (1 : 3 ou 1 : 2).

En déterminant le pouvoir antitoxique de son sérum étalon, M. Ehrlich s'est servi d'un poison qui était composé exactement de parties égales de toxine et de toxone; 100 doses mortelles de ce poison contenaient donc 100 équ. de toxine et 100 équ. de toxone. La quantité de sérum, qui neutralisait 100 doses mortelles, fixait donc en réalité 200 équivalents du poison. Il en a conclu que le pouvoir fixateur de son unité immunisante était en réalité de 200, et que cette unité immunisante fixerait toujours 200 équivalents de tous les poisons, quel que soit leur teneur en toxine, toxones et toxoïdes.

Les expériences sur les effets produits par des mélanges de poison et d'antitoxine partiellement saturés, et dont les résultats seront exposés plus loin, s'accordent parfaitement avec cette hypothèse.

Nous admettons donc le nombre 200 comme l'expression du pouvoir d'attraction de (I).

En désignant par  $\alpha$  le nombre des toxine-équivalents, et par  $z$  le nombre des toxone-équivalents contenus dans  $L_0$  d'un poison déterminé, la composition de  $L_0$  peut être alors écrite de la façon suivante :

$$L_0 = (200 - \alpha - z) \text{ toxoïde} + \alpha \text{ toxine} + z \text{ toxone} = 200 \text{ équivalents.}$$

En ajoutant (I) on aura :

$$(I) + L_0 = (200 - \alpha - z) \text{ toxoïde-antitoxine} + \alpha \text{ toxine-antitoxine} + z \text{ toxone-antitoxine.}$$

Quelles sont celles de ces valeurs qui peuvent être trouvées par l'expérience ?

1. On obtient  $z$  en divisant simplement la valeur  $L_0$  par la dose minima mortelle, on aura donc  $z = \frac{L_0}{(T)}$ .

2. Un simple raisonnement nous permettra de déterminer  $\alpha$  de la façon suivante : Pour mettre en liberté un toxone-équ. de sa combinaison avec l'antitoxine, il faut ajouter au composé un équivalent d'une substance dont l'affinité pour l'antitoxine est plus grande que celle de la toxone. Cet équivalent peut donc être de la toxine ou du toxoïde, ou un mélange des deux.

En désignant ce mélange dans l'équation suivante par : (toxoi-de-toxine),  $L_0$  s'écrira simplement :

$$L_0 = (200 - z) \text{ (toxoi-de-toxine)} + z \text{ toxone.}$$

Donc, puisque dans  $L_0$ , nous avons  $200 - z$  équivalents de plus grande affinité, dont  $z$  toxine-équ., il faudra, pour mettre un toxone-équ. en liberté, ajouter à  $L_0$   $\frac{1}{200 - z} L_0$ , dont  $\frac{1}{200 - z} \cdot z$  toxine-équ.

Pour mettre  $z$  toxone-équ. en liberté, il faut ajouter, à  $L_0$ ,  $\frac{z}{200 - z} L_0$ , dont  $\frac{z}{200 - z} z$  toxine-équ.

L'expérience ne peut nous indiquer que la quantité de toxine-équ. contenue dans  $L_0$  et comme  $(200 - z)$  (toxoi-de-toxine) contient  $z$  toxine-équ., on trouve par l'expression  $\frac{z}{200 - z} z$  dans  $L_0$ , le nombre des toxine-équ. qu'il faut ajouter à  $(I) + L_0$  pour mettre en liberté  $z$  équivalents de toxone.

Antérieurement, on déterminait la même valeur d'une autre façon. On a constaté qu'il fallait ajouter à  $(I) + L_0$ , pour le transformer en  $(I) + L_{\frac{1}{2}}$ , autant d'équivalents de plus grande affinité qu'il y avait dans  $L_0$ , d'équivalents de toxone, et, en outre, un équivalent de toxine libre (pour que le mélange puisse en contenir une dose mortelle). Cette quantité de toxone-équ. était indiquée par la différence entre  $L_{\frac{1}{2}}$  et  $L_0$  moins 1,  $(D - 1)$ . En appelant cette quantité  $\beta$ ,

$$\text{On avait : } \beta = \frac{z}{200 - z} z$$

$$\text{et } z = \frac{200 \beta}{\alpha + \beta}$$

L'exactitude de ces rapports est confirmée par les recherches qui suivent.

En employant cette formule pour calculer les quantités de toxone-équ. contenues dans différents poisons, on trouve :

$$23, 33^{33}, 50, 66^{67}, \text{ et } 100$$

Ces nombres se trouvent encore en proportions simples par rapport au nombre 200, de sorte qu'en déterminant les quantités des *toxone-équ.* dans  $L_0$ , on retrouve les mêmes lois de différen-

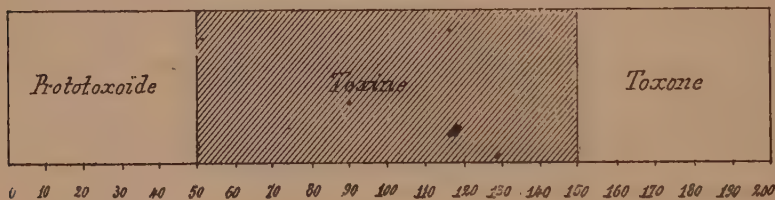
tiation qu'en déterminant, ainsi que nous l'avons vu plus haut, les quantités des *toxine-équ.*

Les recherches qui précèdent ne nous permettent de faire qu'une analyse qualitative du poison diphtérique.

Pour obtenir des renseignements plus précis sur sa constitution, il faut avoir recours à une *saturation partielle du poison par l'antitoxine*.

M. Ehrlich représente les résultats obtenus par des courbes qu'il construit de la façon suivante : sur l'axe des abscisses, divisé en 200 parties égales qui représentent les 200 équivalents du poison, il distribue ce poison de gauche à droite, de façon à placer à gauche, les équivalents possédant la plus grande affinité, les prototoxoïdes; et à droite, ceux qui possèdent la plus petite affinité, c'est-à-dire les toxones.

$L_0$  d'un poison composé, par exemple de 50 prototoxoïdes équ., 100 toxine équ. et 50 toxone équ. serait représenté par la figure suivante : (fig. 4)



En ajoutant (I) à cette valeur  $L_0$ , tous les équivalents du poison seront liés et le mélange sera tout à fait neutre.

$L_0 + \frac{200}{200}$  (I) ne pourra ni tuer un cobaye ni provoquer aucun symptôme pathogène.

En combinant, avec  $L_0$ ,  $\frac{199}{200}$  (I) au lieu de  $\frac{200}{200}$  (I), un équivalent du poison ne sera pas lié, et naturellement ce sera celui dont l'affinité est la plus faible, c'est-à-dire un toxone-équ. D'après ce que nous avons vu plus haut, les toxones ne peuvent produire que des œdèmes, elles ne peuvent pas tuer. En ajoutant à  $L_0$  des fractions de plus en plus petites de (I) nous aurons :

$$L_0 + \frac{198}{200} \text{ (I) tue 0 cobaye.}$$



$$L_0 + \frac{197}{200} (I) - 0 -$$

et ainsi de suite, jusqu'au moment où tous les toxone-équ. seront mis en liberté, le mélange ne contiendra pas une seule dose mortelle, ainsi :

$$L_0 + \frac{150}{200} \text{ tue } 0 \text{ cobaye.}$$

En n'ajoutant que  $\frac{149}{200} (I)$  à  $L_0$ , on mettra en liberté un toxine-équ. et alors le mélange contiendra une dose mortelle.

$$L_0 + \frac{149}{200} (I) \text{ tue } 1 \text{ cobaye.}$$

$$L_0 + \frac{148}{200} (I) - 2 \text{ cobayes.}$$

$$L_0 + \frac{147}{200} (I) - 3 -$$

$$L_0 + \frac{100}{200} (I) - 50 -$$

$$L_0 + \frac{70}{200} (I) - 80 -$$

$$L_0 + \frac{50}{200} (I) - 100 -$$

Pour chaque  $\frac{1}{200} (I)$ , il y aura donc 1 toxine-équ. mis en liberté, de sorte qu'en n'ajoutant à  $L_0$  que  $\frac{50}{200} (I)$ , il y aura, libres, 100 T, qui tueront 100 cobayes.

Maintenant tous les 100 toxine-équ. qui se trouvaient dans  $L_0$  sont libres, de sorte qu'en diminuant encore la quantité d'antitoxine à ajouter à  $L_0$ , on n'obtiendra plus de toxine-équ.

$$L_0 + \frac{50}{200} (I) \text{ tue } 100 \text{ cobayes.}$$

$$L_0 + \frac{49}{200} (I) - 100 -$$

$$L_0 + \frac{1}{200} (I) - 100 -$$

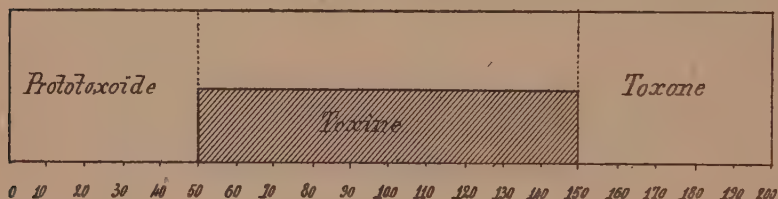
Même, en réduisant la quantité d'antitoxine à  $\frac{1}{200} (I)$ , on

n'obtiendra que 100 toxine-équ. libres, ce qui prouve qu'on se trouve de nouveau dans une zone non toxique, mais contenant cette fois des équivalents à affinité plus grande et se trouvant, par conséquent, à l'opposé de la zone des toxones.

On aura donc :

200	équ.	toxine	+	200	équ.	antitoxine	=	0	doses mortelles.
200	—	—	+	150	—	—	=	0	—
200	—	—	+	50	—	—	=	100	—
200	—	—	+	0	—	—	=	100	—

Le diagramme qui suit représenterait le même poison après un affaiblissement supposé de moitié. Le poison se serait différencié par dichotomie.  $L_0$  ne contiendrait alors que 50 toxine-équ.



En examinant ce poison comme le premier, c'est-à-dire en le saturant partiellement avec l'antitoxine, on obtiendrait pour les toxones le même résultat qu'auparavant :

$L_0$	+	$\frac{200}{200}$	(I)	tue	0	cobayes.
—	+	$\frac{150}{200}$	—	—	0	—
—	+	$\frac{149}{200}$	—	—	0	—
—	+	$\frac{148}{200}$	—	—	1	—
—	+	$\frac{147}{200}$	—	—	1	—
—	+	$\frac{146}{200}$	—	—	2	—
—	+	$\frac{145}{200}$	—	—	2	—
—	+	$\frac{144}{200}$	—	—	3	—
—	+	$\frac{140}{200}$	—	—	5	—
—	+	$\frac{100}{200}$	—	—	25	—

$$- + \frac{50}{200} - - 50 -$$

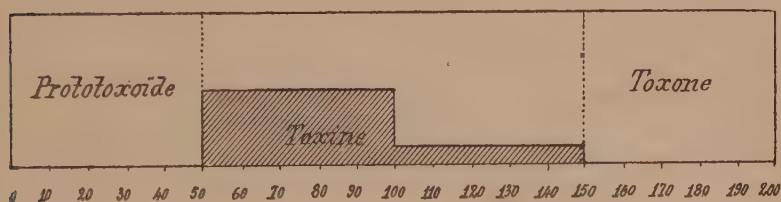
$$- - \frac{1}{200} - - 50 -$$

Il est à remarquer pourtant que le premier équivalent de toxine ne devient pas libre quand on ajoutera  $\frac{149}{200}$  (I) à  $L_0$ , comme dans le premier cas ; mais seulement quand on n'aura ajouté que  $\frac{148}{200}$  (I), le second toxine-équ., quand on n'aura ajouté que  $\frac{146}{200}$  (I), le troisième  $\frac{144}{200}$  (I), et ainsi de suite. Pour mettre en liberté 1 toxine équ., il faut diminuer la quantité d'antitoxine à ajouter par  $\frac{2}{200}$  (I) au lieu de  $\frac{1}{200}$  (I), comme c'était le cas pour le poison non affaibli.

On peut en conclure que, dans la zone de la toxine, il y a pour chaque toxine-équ. encore un toxoïde-équ. d'égale affinité pour l'antitoxine, donc un *syntoxoïde-équ.*

Les prototoxoïdes montreront les mêmes relations que dans le premier cas.

En supposant un affaiblissement du poison tel que  $L_0$  ne contiendrait plus que 30 (T), la toxine occuperait alors la position représentée dans la figure 3.



$$L_0 + \frac{200}{200} \text{ (I) tue 0 cobaye.}$$

$$- + \frac{150}{200} - - 0 -$$

. . . . .

$$- + \frac{141}{200} - - 0 -$$



—	+	$\frac{140}{200}$	—	—	1	—
—	+	$\frac{130}{200}$	—	—	2	—
—	+	$\frac{120}{200}$	—	—	3	—
—	+	$\frac{100}{200}$	—	—	5	—
—	+	$\frac{99}{200}$	—	—	5	—
—	—	$\frac{98}{200}$	—	—	6	—
—	+	$\frac{97}{200}$	—	—	6	—
—	+	$\frac{96}{200}$	—	—	7	—
—	+	$\frac{90}{200}$	—	—	10	—
—	+	$\frac{50}{200}$	—	—	30	—
—	+	$\frac{1}{200}$	—	—	30	—

La zone des toxones n'a pas changé, mais dans la partie du diagramme qui s'étend de 150 à 100, il y a maintenant une telle distribution des toxines et des toxoïdes que pour chaque toxine-équ. il y a maintenant 9 toxoïde-équ.

Entre 100 et 50 on trouve la même distribution de toxine que dans la figure 2.

La zone des prototoxoïdes n'a pas changé.

Ces exemples nous montrent de quelle façon la saturation partielle de la toxine par l'antitoxine nous permet d'examiner les différentes zones du poison. Cette méthode nous donne surtout le moyen d'isoler les toxones et d'en étudier les effets séparément, sans l'influence des autres éléments libres du poison, et aussi de contrôler la justesse de la formule établie plus haut pour calculer les quantités des toxones. J'indiquerai bientôt l'application que j'ai faite de cette méthode à l'étude des quatre poisons dont j'ai parlé au commencement de cet article.

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ

## PROPRIÉTÉS DES MÉLANGES DES TOXINES AVEC LEURS ANTITOXINES

### CONSTITUTION DES TOXINES

PAR

JEAN DANYSZ

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur.

---

En cherchant à déterminer, d'une façon plus exacte que cela n'a été possible jusqu'ici, les unités de mesure pour apprécier la valeur d'une antitoxine diphtérique, M. P. Ehrlich est arrivé à établir, par une longue série d'expériences, les faits résumés dans le mémoire précédent, et sur lesquels je ne reviendrai pas pour le moment<sup>1</sup>.

Pour expliquer ces faits constatés par l'expérience, M. Ehrlich admet que le poison diphtérique est un composé de trois substances, de virulence très inégale pour les animaux, mais d'affinité équivalente pour l'antitoxine; il admet, en outre, que l'*avidité* avec laquelle ces trois substances se fixent sur l'antitoxine n'est pas la même. Réservant le nom de *toxine* à la substance la plus virulente et d'une avidité moyenne, il appelle *toxoïde* celle qui n'a aucune virulence et possède le plus d'avidité pour l'antitoxine, et *toxone* celle qui a une virulence beaucoup plus faible, qui diffère

1. Pour faciliter la lecture de cette note, j'emploierai les mêmes abréviations que celles employées par Madsen dans le travail qui paraît dans le même fascicule des *Annales*.

T. Unité toxique ou 1 dose de toxine mortelle en 4 jours pour cobaye de 250 grammes.

I. Unité immunisante : quantité d'antitoxine qui neutralise 100 T d'une toxine qui a servi à établir le premier « étalon » d'antitoxine.

L<sub>0</sub> (limite de neutralité) quantité de toxine neutralisée par I.

L<sub>+</sub> (limite d'action d'une dose mortelle) quantité de toxine qui, mélangée à I, laissera exactement 1 T libre.

dans ses effets de la toxine, et qui a le moins d'avidité pour l'antitoxine.

On peut se faire une idée très exacte de cette constitution du poison diphérique imaginée par M. Ehrlich en se représentant un poison composé par exemple d'un mélange de chlore, de brome et d'iode en proportions variables, par exemple, 75 chlore, 100 brome et 25 iode, et dans lequel le brome aurait les propriétés de la toxine, le chlore serait le toxoïde, et l'iode, la toxone. En prenant le potassium comme antitoxine de ce poison, et en admettant que 1 c. c. de ce poison contient 100 doses mortelles, c'est-à-dire 100 éq. de brome, on verrait tout d'abord que, pour neutraliser complètement 1 c. c. du liquide toxique, c'est-à-dire satisfaire toutes les affinités, il faudrait non pas 100 K, mais 200 K, et ensuite que :

$$\begin{array}{lcl}
 1) & \text{si } T = 0,01 \text{ c. c. du poison} & \\
 & L_{\frac{1}{2}} \text{ serait} = 115,3 \text{ T ou } 1,153 \text{ c. c. du poison.} & \\
 & L_0 \quad \quad = 100 \quad T \text{ ou } 1 \text{ c. c.} & \text{---} \\
 & \hline
 & D = 15,3 \text{ T ou } 15,3 \text{ doses mortelles.} & 
 \end{array}$$

il faudrait donc ajouter 15 doses mortelles au mélange neutre pour obtenir une dose mortelle libre. Le brome du mélange ajouté a commencé en effet par se fixer sur le K du KI et il n'y avait de brome libre dans le mélange qu'après déplacement de tous les équivalents d'iode de sa combinaison;

2) Que, si on ajoutait 75 K à 1 c. c. du poison, ce mélange contiendrait exactement 100 doses mortelles, puisque les 75 K seraient complètement absorbés par les 75 Cl.

Il y aurait donc, d'une part, disparition apparente d'une partie de la toxine, d'autre part, disparition d'une partie de l'antitoxine contenues dans les mélanges.

3) La différence  $D$  entre les valeurs  $L_0$  et  $L_{\frac{1}{2}}$  contient  $D - 1$  de toxone et 1 de toxine.

La valeur  $D - 1$  ou  $\beta$  doit être nécessairement directement proportionnelle à la quantité de toxone, et inversement proportionnelle à la quantité de toxine contenue dans  $L_0$  ce qui, lorsqu'on connaît la quantité de toxine (dose mortelle), permet de calculer la quantité de toxone et de toxoïde, ou, en d'autres termes, de faire une analyse quantitative de chaque poison dans toutes les phases de ses transformations ou affaiblissements à l'aide de la formule



$z = \frac{200\beta}{\alpha + \beta}$ , dans laquelle  $z$  représente la toxone,  $\alpha$  la toxine et 200 le nombre d'équivalents de poison pouvant être fixés par les 200 équivalents de l'unité immunisante.

D'après Ehrlich, la constance de la valeur de  $\beta$  pour un poison, quel que soit le degré d'affaiblissement de ce poison, par rapport à un sérum antitoxique dont la valeur a été déterminée par une toxine quelconque, donne une unité de mesure constante et rend comparables toutes les déterminations des toxines et d'antitoxines inconnues, ainsi que toutes les études sur l'immunité antitoxique<sup>1</sup>.

Mais, si la constatation de cette série de faits, confirmés par les expériences de Madsen que publieront bientôt ces « Annales », et leur réunion dans un ensemble bien coordonné, marque un progrès considérable dans nos connaissances de ce que l'on peut appeler « l'action des toxines », la tentative de M. Ehrlich d'expliquer les causes et la nature des phénomènes qu'il a si bien su observer et démêler, est moins heureuse.

Pour expliquer la présence dans les poisons diphtériques de ses *toxones* et *toxoides*, M. Ehrlich a admis tout d'abord que les molécules du poison qui, au début de leur formation, étaient équivalentes sous tous les rapports, étant toutes des molécules de *toxine*, se transformaient peu à peu en substances ayant des propriétés différentes. Ayant reconnu plus tard que la *toxone* se formait toujours en même temps que la *toxine*, qu'elle était contenue souvent en quantité égale à celle de la toxine dans le bouillons de culture, et que cette quantité n'augmentait jamais après filtration de la culture ou destruction des microbes, il a été obligé d'admettre que la *toxone* était une substance active différente de la *toxine*, et qu'elle était secrétée par les microbes diphtériques en même temps que cette dernière.

Comme, au contraire, la quantité de *toxoides* augmente toujours dans la même proportion que diminue la quantité de toxine, M. Ehrlich a été confirmé dans l'idée que la *toxoides* est un produit de transformation de la toxine.

1. Cette « unité de mesure » adoptée par M. Ehrlich n'est probablement pas juste, il sera impossible de faire une mesure juste aussi longtemps qu'on n'aura pas de toxines pures; mais en corrigeant la « mesure » on pourra aussi corriger toutes les évaluations antérieures, de sorte que les résultats de toutes les expériences seront toujours comparables.

Cette transformation de la toxine et de la toxone en toxoïdes et toxonoïdes se ferait d'une façon très simple : ces poisons seraient formés de deux substances distinctes, dont l'une, *toxophore*, serait le principe actif du poison, et dont l'autre, *haptophore*, n'aurait que la propriété de fixer le principe actif sur les éléments sensibles. Une molécule de toxine se transformerait donc en toxoïde, en perdant le groupement *toxophore* qui y était attaché à l'origine.

La substance *toxophore* n'aurait aucune affinité ni pour les éléments sensibles qu'elle tue, ni pour l'antitoxine. Seule, la substance *toxophore* serait complètement neutre, et ne pourrait agir que par l'intermédiaire de la substance *haptophore* qui, par contre, serait doublement active, et posséderait la propriété, assez singulière, de fixer d'un côté exclusivement le principe actif pour former un produit actif, et d'un autre côté exclusivement la substance sensible ou l'antitoxine, pour former un produit neutre.

Ce serait, en quelque sorte, un *noyau d'affinité* avec une *affinité gauche*, exclusivement réservée à l'antitoxine, et une *affinité droite*, spécialement réservée à la toxine.

Un poison affaibli serait donc, pour M. Ehrlich, un poison dont un certain nombre de *noyaux* auraient perdu leur groupement toxique; ou, ce qui reviendrait au même, leur affinité pour la toxine, tout en gardant intacte leur affinité pour l'antitoxine.

Une molécule de poison saturée pourrait être représentée le plus simplement par :  $a - N - t$ , où  $N$  serait le noyau d'affinité,  $a$  l'antitoxine et  $t$  le principe actif.

On aurait ainsi :  $- N^{100} - t^{100} = 100$  doses mortelles.

$a^{100} - N^{100} - t^{100} =$  mélange neutre.

$- N^{100} - t^{50} = 50$  doses mortelles.

$a^{50} - N^{100} - t^{50}$  ou  $\left\{ \begin{array}{l} - N^{50} - t^{50} \\ a^{50} - N^{50} - \end{array} \right. = 50$  doses mortelles.

$a^{100} - N^{100} - t^{50}$  ou  $\left\{ \begin{array}{l} a^{50} - N^{50} - t^{50} \\ a^{50} - N^{50} - \end{array} \right. =$  mélange neutre.

Dans ses expériences sur l'action des *lysines*, M. Ehrlich croit être parvenu à séparer la substance *haptophore* de la substance *toxophore*.

Je crois devoir citer en entier une de ses nombreuses et intéressantes expériences, parce qu'elle les résume en quelque

sorte toutes, et parce qu'elle nous montre, en même temps, combien est artificiel tout ce système de distinctions basé uniquement sur un ensemble de phénomènes produits par des substances dont on ne connaît ni la nature, ni le mécanisme d'action.

En exposant un mélange de hémolysine (Immunkörper et Adiment) et de sang sensible à une température voisine de 0°, en centrifugeant, et en séparant ensuite, par décantation, le dépôt du liquide qui surnage et en ajoutant :

1° Au dépôt :

a) De l'eau physiologique, M. Ehrlich n'obtient : aucune réaction.

b) De l'eau physiologique et du sérum normal, il obtient : hémolyse.

2° Au liquide décanté :

a) Des hématies sensibles, il n'obtient : aucune réaction.

b) Des hématies et du sérum normal, il n'obtient : aucune réaction.

c) Des hématies et de l'hémolysine chauffée, obtient : hémolyse.

Il en conclut : 1° que, puisque à une température voisine de 0°, le *noyau d'affinité* (Immunkörper) se fixe seul sur les hématies, tandis que le *principe actif* (Adiment) reste dans le liquide ; *ce sont là deux substances distinctes et séparables* ; 2° que, puisque le noyau et le principe actif agissant séparément restent neutres pour les hématies sensibles, et puisque le noyau seul possède de l'affinité pour les hématies, *le principe actif ne peut agir que par l'intermédiaire de son noyau d'affinité et quand il y est attaché.*

Il semble donc bien qu'il y a là dans cette hémolysine deux substances, l'une hapto, l'autre toxophore, séparables, et ne pouvant agir que quand elles sont fixées l'une à l'autre ; mais une simple réflexion nous montre que le phénomène n'est pas aussi simple que semble l'admettre M. Ehrlich.

Si, en effet, les deux substances ont de l'affinité l'une pour l'autre, elles doivent se trouver à l'état de combinaison dans les mélanges dans lesquels elles se trouvent ensemble. Pourquoi alors l'une d'elles, la substance haptophore, se fixerait-elle seule sur les hématies, laissant l'autre dans le liquide ?

Il ne suffit pas, pour expliquer ce fait, d'admettre, ainsi que



le fait M. Ehrlich, des différences d'affinité du noyau pour les hématies d'une part et pour le principe actif d'autre part. Il faudrait admettre, en outre, que les deux substances peuvent se combiner et se décomposer pour ainsi dire spontanément, sans causes apparentes, ce qui, à notre avis, est loin d'être impossible; mais ce qui nous conduirait en même temps à une interprétation de tous ces phénomènes foncièrement différente de celle professée par M. Ehrlich.

Nous réservant de revenir plus loin avec plus de détails sur le mécanisme de l'action de ces deux substances qui constituent tout poison immunisant, il nous faut examiner encore maintenant le rôle que, d'après les idées de M. Ehrlich, les substances hapto et toxophore devraient jouer dans le processus de l'immunisation.

Nous avons vu plus haut qu'une toxine ne peut agir que par l'intermédiaire de son noyau; si donc un *noyau* venait s'attacher par son « affinité gauche » à une cellule sensible, tenant en même temps le principe actif attaché à son « affinité droite », il serait neutralisé par une chaîne latérale de la cellule et mettrait cette cellule « sous l'influence » (?) du principe actif. Ce dernier agirait alors sur la cellule et produirait des lésions qui se traduiraient par des symptômes caractéristiques pour chaque toxine.

Si, au contraire, le *noyau* était seul, il neutraliserait tout aussi bien la même « chaîne latérale », mais, dans ce cas, la cellule ne s'en porterait pas plus mal. Il n'y aurait pas de symptômes caractéristiques et, par conséquent, pas de lésions spécifiques, mais l'action de ce *noyau* n'en serait pas moins spécifique pour chaque toxine.

La conclusion que l'on est nécessairement amené à en tirer, *c'est que ce ne serait pas le principe actif, mais le noyau qui jouerait le rôle principal, sinon exclusif, dans l'action immunisante des toxines.*

En effet, en admettant avec M. Ehrlich, que l'antitoxine ne serait autre chose que la « chaîne latérale » qui fixe le noyau de la toxine sur la cellule sensible et qui serait produite en excès, et versée dans la circulation à la suite d'une reproduction surabondante des « chaînes latérales » neutralisées par le poison, on serait aussi obligé d'admettre que c'est la substance haptophore

seule qui pourrait jouer un rôle actif dans la production de l'antitoxine; et cela, parce que, seule, la substance haptophore possède une affinité pour ces chaînes latérales et peut les neutraliser; et ensuite, parce qu'une cellule tuée ou endommagée par la substance toxophore serait certainement incapable de reproduire quoi que ce soit.

Je crois devoir insister tout spécialement sur le rôle prépondérant que M. Ehrlich attribue à la substance haptophore dans le processus de l'immunisation. C'est là, en effet, la base fondamentale de ses théories sur la constitution et sur l'action des toxines, théories qui indiquent une direction nouvelle aux recherches sur l'immunité et délimitent en même temps le champ de ces recherches.

D'une part, M. Ehrlich cherche à préciser la nature de la constitution des substances actives sans pouvoir donner à cette constitution aucune image nette d'une structure moléculaire quelconque et sans lui trouver d'analogues connus; d'autre part, il cherche à préciser la nature des réactions entre les substances actives et les substances sensibles en admettant que ces réactions aboutissent toujours à la formation d'un produit neutre identique à un sel neutre résultant d'une combinaison d'un acide et d'une base.

On peut dire, en un mot, que, si le travail expérimental de M. Ehrlich et de ses élèves apporte une série de faits nouveaux d'un très grand intérêt, l'ensemble de ses considérations théoriques contient trop d'incertitudes et d'idées vagues enserrées dans des limites trop étroites, pour satisfaire l'esprit.

La première obligation que doit s'imposer un expérimentateur quand il veut interpréter une série de phénomènes qui varient suivant que changent les conditions de l'expérience, c'est de tenir compte de tous les facteurs qui ont pu influer sur les changements observés. Cette obligation n'est pas toujours facile à remplir; mais il est certain que si, — ayant à opérer dans un milieu compliqué, — on se bornait à baser ses conclusions sur les changements apparents que montre la substance étudiée, sans tenir compte des changements de nature et de proportion que subissent en même temps toutes les autres substances qui

composent le milieu, on aurait toutes les chances d'arriver à des conclusions fausses ou tout au moins gratuites.

C'est précisément dans ces conditions défectueuses que M. Ehrlich explique les modifications que subissent les toxines, en considérant ces dernières comme des substances bien définies quant à leurs propriétés, et en négligeant complètement le milieu dans lequel elles se trouvent; en admettant, en un mot, que les toxines subiraient les mêmes modifications si elles se trouvaient à l'état pur dans de l'eau distillée.

Or, il est évident que si une toxine forte, diluée dans l'eau distillée, n'a pas exactement les mêmes propriétés, la même « allure d'action », qu'une toxine affaiblie au même titre, — ainsi que cela est facile à constater, — il faut tenir compte, pour expliquer ce changement de propriétés, non seulement des modifications intimes que la substance toxique a pu subir par elle-même, mais aussi de la différence des proportions de toutes les autres substances contenues dans les deux liquides. Ainsi, en appelant  $m$  la somme de toutes les substances, autres que la toxine, contenues dans un bouillon de culture,  $T$  l'unité de toxine contenue dans ce bouillon et en exprimant par  $\frac{m}{T}$  le rapport de ces deux sortes de substances dans un bouillon toxique frais, il faut au moins tenir compte de ce fait que, si 1 c. c. de bouillon toxique contient 100  $T$  p. ex., on aura : 1)  $\frac{m}{100 T}$  dans 1 c. c. de bouillon toxique frais, 2)  $\frac{m}{T}$  dans 1 c. c. du même liquide après affaïssement de la toxine de 100 à 1, et 3)  $\frac{m \cdot 100}{T}$  dans 1 c. c. du liquide frais dilué à 1/100 dans l'eau distillée.

J'ai eu déjà l'occasion de signaler<sup>1</sup> l'importance des changements de ce rapport  $\frac{m}{T}$  sur les effets produits par les diastases d'un sérum actif sur un sang sensible.

Les expériences citées dans cette note m'ont permis de constater :

1° Que si en appelant  $m$  l'ensemble de substances en solution ou en suspension dans un volume déterminé d'eau distillée — dans certaines conditions du rapport  $\frac{m}{T}$  un sérum actif donnait avec un sang sensible une *hémolyse*, on obtenait, en augmentant ou en diminuant la valeur de  $m$  par rapport à celle de  $T$ ,

1. *Bulletin de la Soc. de Biologie*, 30 juin 1899.



tantôt une *agglutination*, tantôt une *coagulation* séparément, tantôt les trois phénomènes ensemble ;

2° Que l'apparition de ces trois phénomènes dépendait de la proportion des sels (chlorure de sodium et citrate de soude) par rapport à la quantité de sang, ce que l'on peut exprimer, en remplaçant  $m$  par sa valeur  $n + s$  ( $n$  indiquant la quantité de sels et  $s$  la quantité de sang) par le rapport  $\frac{n+s}{T}$ .

Des expériences ultérieures m'ont permis de constater, en outre :

3° Qu'une certaine quantité (très faible) de phosphates pouvait modifier très sensiblement l'intensité de ces trois phénomènes, favorisant l'un d'eux, empêchant l'autre, suivant les proportions et la nature de ces phosphates ajoutés au mélange ( $\frac{(p+n)+s}{T}$ ).

Ces expériences m'ont permis, en un mot, de constater d'une façon tangible :

*Qu'une seule substance active peut produire des phénomènes différents, non pas seulement parce qu'elle est composée dès l'origine de plusieurs substances distinctes (toxine et toxone), ou parce qu'elle serait composée de plusieurs substances résultant d'une différenciation (toxoides et toxonoïdes d'Ehrlich) d'une seule substance, uniforme à l'origine, mais simplement par suite du changement du rapport  $\frac{m}{T}$ .*

Une dissection plus détaillée de ces phénomènes consisterait à déterminer avec une précision suffisante le rôle de chaque composant du milieu dans lequel on fait agir la substance active, c'est-à-dire l'influence de la quantité et de la nature des valeurs  $p$ ,  $n$ ,  $s$  par rapport à la quantité de  $T$ , et le rôle des substances qui composent  $T$ . Mais comme, quand il s'agit de toxines,  $T$  n'est pas non plus un corps simple, mais un composé complexe de substances plus ou moins inconnues, il est évident que, tant que nos connaissances resteront ce qu'elles sont actuellement au sujet de la composition chimique des toxines et des substances sensibles à l'action de ces toxines, tout progrès dans cette direction sera impossible.

Toutefois, ne pouvant pas aborder le problème de face, il sera peut-être possible de pénétrer un peu plus en avant dans les secrets de ces actions par un chemin détourné.

Je crois avoir trouvé ce chemin en créant de toutes pièces un  $T$  artificiel ; alors connaissant  $T$ ,  $p$  et  $n$ , il ne reste plus qu'une seule inconnue : la substance sensible, dont on pourra peut-être

déterminer la composition en tâtonnant, par des analogies, s'il est impossible de le faire autrement.

Ma toxine c'est de l'ammoniaque, et ce sont les récents travaux sur les substances hémolysantes et surtout le travail de mon ami M. Madsen, sur l'action de la tétanolysine, travail qui n'est pas encore publié, mais dont Madsen a bien voulu me communiquer les résultats, — qui m'ont donné l'idée de comparer l'action des sérums hémolysants à l'action analogue de l'ammoniaque. Pour comparer les propriétés des mélanges des toxines avec leurs antitoxines, je me suis servi de mélanges d'ammoniaque et d'acide sulfurique.

Je puis déclarer de suite que les résultats obtenus ont complètement répondu à mes prévisions.

Après avoir déterminé les unités de mesure pour l'action d'une ammoniaque en solution dans de l'eau physiologique sur un sang déterminé, j'ai reconnu tout d'abord que ces unités de mesure restaient sensiblement les mêmes quand, au lieu de l'ammoniaque seule, on employait un mélange d'ammoniaque et d'acide sulfurique dans lequel il y avait les mêmes quantités d'ammoniaque libre que dans le cas précédent. Ainsi, si 0.0001 c.c. am. produisait une hémolyse à peine appréciable, 0.009 am. donnait une hémolyse complète, les mélanges de 0.0999 acide + 0.01 c.c. am., et 0.0001 d'acide c.c. + 0.009 am. donnaient exactement les mêmes résultats. Toutes les doses, dans les deux séries, agissaient exactement de la même façon, les deux courbes se couvraient exactement dans tous leurs points.

Il en était tout autrement quand, au lieu de diluer l'acide et l'ammoniaque dans l'eau, on faisait les mêmes dilutions dans un peu de sérum et d'un bouillon de culture. Dans ce cas si 0.001 d'ammoniaque seule donnait 1 unité, il fallait ajouter 10 unités d'ammoniaque, au mélange neutre pour la phénolphthaléine, pour obtenir sur le sang le même effet que celui produit par l'unité d'ammoniaque seule.

Enfin quand, au lieu de prendre du bouillon et du sérum, j'ai ajouté aux dilutions d'ammoniaque et d'acide sulfurique dans de l'eau physiologique, du phosphate de soude à la dose de 1 gr. par litre, en suivant en cela les conseils qu'a bien voulu me donner M. Duclaux, j'ai obtenu le même phénomène, mais

encore plus exagéré que dans le cas précédent. L'unité d'action de l'ammoniaque seule étant de 0.001 c. c., il fallait ajouter 20 unités d'ammoniaque au mélange neutre, pour obtenir le même effet.

En outre, si, au lieu de prendre du sang de lapin, comme dans les expériences précédentes, on traite le sang d'oie de la même façon, on obtient les mêmes résultats généraux, mais le nombre d'unités d'ammoniaque (unités toxiques) qu'il faut ajouter à un mélange neutre pour obtenir le même effet que celui produit par l'unité d'ammoniaque seule, est de 40 quand la proportion de phosphate de soude est de 1/000 et de 70 quand cette proportion est portée à 2/000.

En exprimant ces résultats par la formule d'Ehrlich, nous aurions, en prenant comme unité de mesure 1 c. c. de liquide ammoniacal contenant 100 T :

Dans le 1 <sup>er</sup> cas.....	$L_0 = 100 \text{ T}$
— 2 <sup>e</sup> — .....	$L_0 = 90 \text{ T}$
— 3 <sup>e</sup> — .....	$L_0 = 80 \text{ T}$
— 4 <sup>e</sup> — .....	$L_0 = 60 \text{ T}$
— 5 <sup>e</sup> — .....	$L_0 = 30 \text{ T}$

La même ammoniaque nous apparaîtrait donc dans ces 5 cas comme 5 ammoniaques différentes composées de deux substances différentes en proportions variables, substances qui auraient des toxicités et des avidités différentes, mais des affinités équivalentes pour l'acide.

L'analogie entre les propriétés de la toxine diphtérique découvertes par M. Ehrlich et l'influence des phosphates sur l'action de l'ammoniaque ne s'arrête pas là : en ajoutant à des séries de tubes convenablement disposés, et contenant tous les mêmes quantités de sang, des doses croissantes par exemple de 1 à 50 ou 100 unités d'ammoniaque seule et d'ammoniaque partiellement saturée par l'acide sulfurique, et préparées comme il est indiqué dans les 5 cas précédemment cités, et en indiquant les différences d'effets produits par des courbes, on constate que :

1<sup>o</sup> Pour l'ammoniaque seule, les effets produits sont régulièrement proportionnels aux doses employées. La ligne par laquelle on réunit les points qui marquent les effets produits dans chaque tube est une droite allant de 0 à 100 par exemple.



2° Pour l'ammoniaque en excès dans un mélange d'ammoniaque et d'acide en dilution dans du bouillon ou dans l'eau contenant du phosphate de soude en proportions variables, les effets produits ne sont pas régulièrement proportionnels aux doses employées. En réunissant les points qui marquent les effets produits par les mélanges par rapport aux effets produits par l'ammoniaque seule, on obtient une ligne brisée, montant en escalier et qui rejoint ou dépasse même la précédente en différents points.

Pour chaque proportion d'ammoniaque, d'acide et de phosphate, il y aurait donc une loi d'action différente.

La courbe que l'on obtient peut être divisée en zones dans lesquelles l'action de doses croissantes d'ammoniaque serait neutralisée à partir d'un certain degré, et qui sont suivies de sauts brusques, — comme si l'ammoniaque se trouvait concentrée en certains points. — En disposant les tubes à essai contenant des doses croissantes d'ammoniaque de gauche à droite, on pourrait dire que l'ammoniaque, dont l'action disparaît à gauche, se concentre à droite.

Les deux courbes qui suivent donneront d'ailleurs une idée plus exacte de la marche de l'expérience que toutes les descriptions :

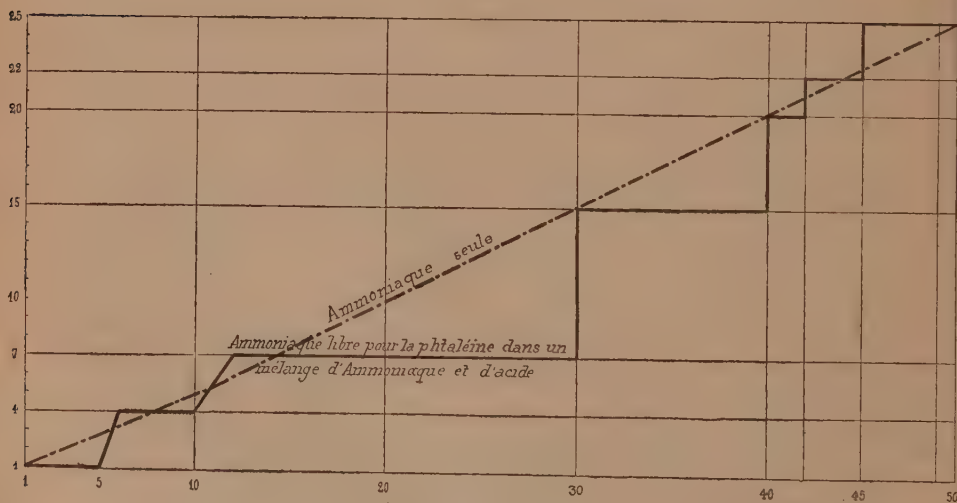


Fig. 1. Sang de lapin.

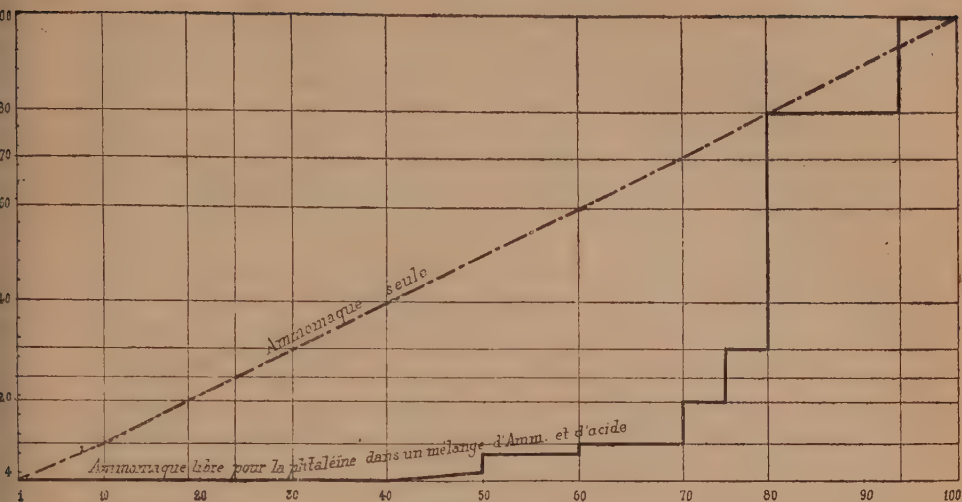


Fig. 2. Sang d'oie.

Dans les deux cas il a été employé des solutions d'ammoniaque et d'acide sulfurique dans l'eau physiologique contenant 1/000 de phosphate de soude. Les deux liquides se neutralisaient exactement à volumes égaux pour la phtaléine du phénol.

La fig. 1 (sang de lapin) indique que si 0,5 c. c. d'ammoniaque étaient exactement neutralisés par 0,5 c. c. d'acide pour la phtaléine, il fallait 0,5 d'am. + 0,45 d'acide pour obtenir un mélange neutre pour le sang, et que 0,5 c. c. d'ammoniaque seule produit le même effet qu'un mélange de 0,05 c. c. d'acide et de 0,5 c. c. d'ammoniaque.

La fig. 2 (sang d'oie) indique que, si 1 c. c. d'am. + 1 c. c. d'acide donnent un mélange neutre pour la phtaléine, il faut 1 c. c. d'am. + 0,60 c. c. d'acide pour obtenir un mélange neutre pour le sang d'oie et que, si 1 c. c. d'am. = 100 T, on a 1 c. c. d'am. + 0,05 c. c. d'acide, également = 100 T.

Il est évident que, dans ces deux cas, ce sont uniquement les changements de proportions dans les quantités de phosphate par rapport à la quantité d'ammoniaque libre qui a pu produire les différences d'action marquées par les deux courbes de chaque figure.

Il semble certain aussi que « l'allure spéciale » de l'action des mélanges de toxines et d'antitoxines diphtériques, observée par

M. Ehrlich, doit être attribuée aux mêmes causes. En effet, dans un mélange de  $I + L_{\frac{1}{10}}$  d'une toxine dont  $L_{\frac{1}{10}}$  serait de 101 T, on aurait 1 T libre pour 100 m, on aurait donc le rapport de  $\frac{100\ m}{T}$  au lieu de  $\frac{m}{T}$ , comme ce serait le cas pour la toxine seule.

Cette influence du phosphate sur l'action très spéciale de l'ammoniaque nous donne encore quelques autres renseignements intéressants :

Ainsi, les courbes ci-dessus nous montrent qu'un mélange complètement neutre pour le sang d'oie est encore très actif pour le sang de lapin. D'autre part, nous avons remarqué plus haut que, en augmentant les proportions des phosphates dans les mélanges, on diminue l'action de l'ammoniaque sur le sang du même animal. C'est encore là une analogie frappante avec l'action de la toxine seule ou en mélange avec son antitoxine sur les animaux plus ou moins sensibles.

Cette analogie nous aidera peut-être à trancher d'une façon définitive la question encore controversée de la nature de la combinaison entre une toxine et son antitoxine quand elles se trouvent mélangées ensemble.

Il s'agit de savoir, en effet, si un mélange inactif de toxine et d'antitoxine peut être considéré comme un mélange chimiquement neutre, ou un mélange dans lequel les deux substances en quantités équivalentes s'empêcheraient d'agir mutuellement.

L'argument qui semblait le plus décisif en faveur de cette dernière opinion, c'est qu'un mélange inactif pour un animal peu sensible se montrait toujours actif pour un animal plus sensible. Eh bien ! les résultats des expériences avec les mélanges d'acide et d'ammoniaque en présence des phosphates nous montrent que, s'il est possible et même très probable que la majeure partie de la toxine se combine avec l'antitoxine pour former un mélange chimiquement neutre, il n'en est pas moins certain que la quantité de toxine, dont l'action semble disparaître pour un animal peu sensible, mais qui apparaît dans un organisme plus sensible, *n'est pas chimiquement neutralisée*.

En effet, dans le cas de l'ammoniaque, on peut évaluer exactement en unités et en c. c. quelle est la quantité d'ammoniaque qui disparaît sous l'influence d'une quantité connue de phosphate, et on trouve que 1 de phosphate de soude fait disparaître dans certains cas 100, dans d'autres 200 et plus d'ammo-



niaque. Il ne peut donc en aucun cas s'agir là d'une réaction chimique proprement dite entre l'acide phosphorique et l'ammoniaque, parce que, en admettant que toute la soude du phosphate de soude puisse être remplacée par l'ammoniaque, cette dernière ne pourrait disparaître du mélange que dans la proportion de 1 de soude pour 2 de notre solution d'ammoniaque.

On peut donc dire que dans tous les milieux contenant des phosphates, il n'y a de neutralisation chimique que dans des limites variables suivant les proportions des phosphates dans les mélanges.

Enfin, je crois devoir faire remarquer que, dans le cas particulier de l'action des phosphates sur les mélanges d'ammoniaque et d'acide sulfurique, le phosphate peut être considéré comme une sorte de réactif d'une délicatesse très grande et très spéciale; et que, par conséquent, tout acide et toute base inorganique ou organique se trouveraient dans le même cas.

Or, comme il y a une analogie très étroite entre l'action, dans des milieux phosphatés, des acides et des bases d'une part, et l'action des toxines et des antitoxines d'autre part, n'est-on pas conduit à admettre que ce sont les phosphates précisément qui donnent à l'action de ces deux sortes de substances la même allure; et, en dernière analyse, que la toxine et l'antitoxine sont l'une pour l'autre un acide et une base?

En résumé, il me semble démontré :

1° Que l'allure particulière de l'action des toxines, ainsi que les propriétés des mélanges de toxine et d'antitoxine précisées par M. Ehrlich, n'ont pas pour cause une différenciation de la toxine en substances différentes plus ou moins toxiques, mais tout simplement la présence des phosphates dans les mélanges en proportions plus ou moins fortes, suivant les degrés d'affaiblissement plus ou moins avancé des toxines;

2° Que, suivant les proportions des phosphates et d'autres sels contenus dans les mélanges (et dans les tissus, quand il s'agit de l'action d'une toxine sur un organisme vivant), une même substance active peut produire des effets variables. D'où différence de sensibilité et d'action d'une toxine sur les animaux de différentes espèces.

# LA PESTE BOVINE EN TURQUIE

ÉPIDÉMIOLOGIE — FORMES CLINIQUES — SÉROTHÉRAPIE

PAR

LE D<sup>r</sup> RÉFIK-BEY  
Chef de laboratoire.

LE VÉTÉRINAIRE RÉFIK-BEY  
Chef de laboratoire adjoint.

---

(Institut impérial de bactériologie de Constantinople.)

---

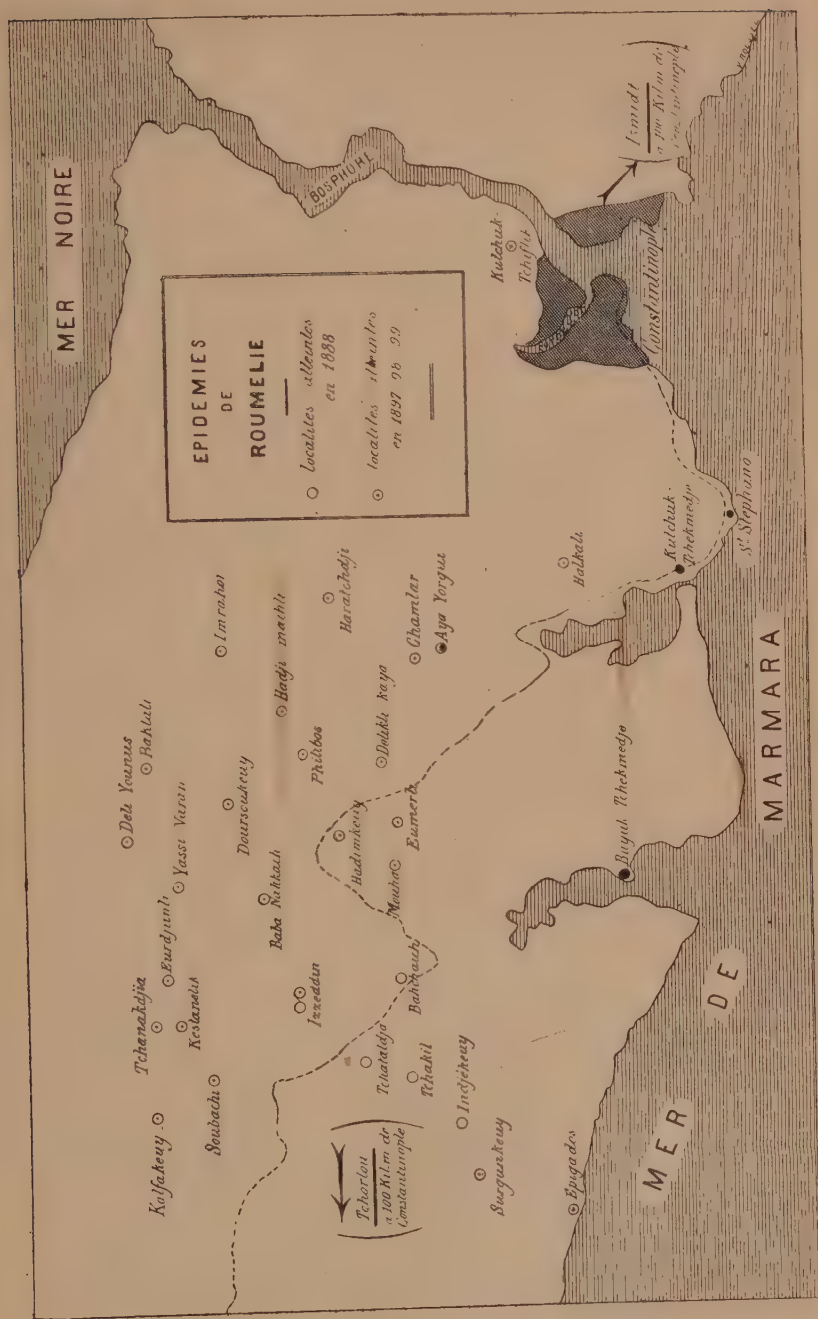
Depuis l'année 1897, nous avons été spécialement chargés par M. le D<sup>r</sup> Nicolle de suivre diverses épidémies de peste bovine et de diriger l'application en grand du traitement sérothérapique. Le présent travail contient le résumé de nos recherches.

Inutile d'insister sur la fréquence de la peste bovine en Turquie, fréquence déjà mentionnée dans ces *Annales*. Rappelons seulement que, chaque année, des épizooties très meurtrières sévissent en de nombreux points de l'Empire Ottoman. Aujourd'hui, grâce à l'initiative prise par le Ministère de l'Agriculture, la lutte contre le typhus contagieux se poursuit systématiquement. On envoie successivement dans les différents vilayets des vétérinaires auxquels un stage à l'Institut Bactériologique a permis d'acquérir une instruction microbiologique générale et la pratique de la peste bovine. C'est à cette initiative que nous devons d'avoir été bien secondés dans nos missions, et nous en remercions sincèrement ici S. E. le Ministre de l'Agriculture et Eram Effendi, chef de la section technique de l'Agriculture. Tous les deux n'ont rien négligé pour rendre notre travail facile et fructueux.

Le typhus contagieux frappe toutes les races de bovidés ainsi que les buffles; il épargne les moutons, les chèvres, les porcs, etc... Lors des épidémies du vilayet d'Aïdin (1898) on a pu se convaincre que le chameau, lui aussi, était réfractaire à la maladie naturelle.

## ÉPIDÉMIOLOGIE

Nous avons observé jusqu'ici trois grandes épidémies. L'une,





qui apparut dans la région de Tchataldja (Roumélie) et s'étendit jusqu'aux abords de Constantinople (1897-98-99); l'autre, qui sévit dans le vilayet d'Aidin (Anatolie) pendant l'année 1898; une dernière enfin qui fit de grands ravages dans la contrée de Yozgat (Anatolie) en 1898 et 1899. Voici, en quelques mots, l'histoire abrégée de ces épidémies.

*1<sup>o</sup> Épidémie de Roumélie.* — La région de Tchataldja (voir la carte ci-jointe) a été dévastée jadis à plusieurs reprises par des épizooties très meurtrières (1853-1863-1877). En 1888 l'affection a régné à Tchataldja, à Izzeddin, Bahchaich, Tchakil, Indjékeuy.

Jusqu'en 1897, la contrée est restée indemne, malgré la fréquence de la peste bovine dans la zone de Constantinople (et en particulier à Ismidt).

En novembre 1897, un paysan de Baba-Nakkache amène à Constantinople un chariot trainé par deux bœufs. Il attache ces bœufs dans une étable où se trouvaient des animaux malades (nous ignorons d'où provenaient ceux-ci). A son retour, un des bœufs meurt à Philibos, l'autre à Baba-Nakkache. Aussitôt le typhus contagieux éclate dans les deux villages. La maladie s'étend alors : d'une part à Doursounkeuy, Hadji-Machli, Imrahor, Haratchtji, Chamlar, Aya Yorgui, Délikli-Kaya, Eumerli, Hadimkeuy, Mouka — d'autre part à Soubachi, Kalfakeuy, Deli-Younous, Baklali — enfin jusqu'à Surgunkeuy et Epigados. L'épidémie paraît s'arrêter en février 1898. La manière dont la peste a été transportée de Baba-Nakkache à Soubachi mérite d'être mentionnée. Des paysans conduisaient un chargement de bois de Soubachi à Hadimkeuy; surpris par le froid, ils s'arrêtent pendant une nuit à Baba-Nakkache; les bœufs qui servaient à traîner les chariots s'infectent au contact d'animaux malades et, à leur retour, contaminent les troupeaux de Soubachi.

En juin 1898, le typhus apparaît à Eurdjunlu. Une enquête minutieuse démontre que l'affection n'a cessé de régner depuis février dans le village de Yassi-Viran où les pertes furent considérables. Les habitants avaient soigneusement caché les cas, par crainte des cordons et autres mesures sanitaires. La peste se transmet d'Eurdjunlu à Tchanakdja à la façon suivante. Un fermier, ayant conduit des bœufs de Tchanakdja à Eurdjunlu

apprit que la maladie régnait dans ce dernier village (elle avait été importée de Yassi-Viran). Il s'empessa de ramener les animaux à Tchanakdja, mais ceux-ci, déjà contaminés, infectèrent la localité. De là, le typhus s'étendit à Kestanélik et à Izzeddin. L'épidémie prit fin en juillet. Les pertes avaient été de 65 0/0 (race grise et buffles).

A ce moment, l'affection se montra à l'École d'agriculture de Halkali, ainsi que dans un village voisin (Kutchuk-Nakkache).

Cette dernière épizootie fut combattue avec succès par la sérothérapie. Les pertes, avant l'intervention, avaient été de 81,5 0/0 (races perfectionnées et race grise).

Tout paraissait terminé, lorsqu'en décembre 1898 une épidémie éclata à Tchoulou. La peste fut apportée par des animaux de Youvali, village dans lequel la maladie n'avait cessé depuis juin 1898. Elle occasionna 72,5 0,0 de mortalité et fut enrayée par le traitement sérothérapique. Depuis, aucun cas n'a été signalé en Roumélie.

2<sup>e</sup> *Épidémie du vilayet d'Aïdin.* — Cette épidémie, dont nous avons pu constater nous-mêmes les ravages à deux reprises, a été fort bien étudiée par le vétérinaire en chef, Hassan Effendi, auquel nous empruntons les quelques détails qui suivent.

Depuis 1894, la maladie règne dans la province. En 1894, elle a occasionné la perte de 50,000 animaux. En 1895, 5,000 bovidés ont péri. En 1896, la mortalité a été de 3,000 têtes; en 1897, encore de 3,000. Enfin, en 1898, 500 animaux seulement ont péri; il est vrai que peu de villages ont été atteints et que les mesures sanitaires ont été fort bien conduites.

La presque totalité des bovidés du vilayet d'Aïdin appartient aux races noires. La mortalité a été de 70 0/0 en 1898.

3<sup>e</sup> *Épidémie de Yozgat.* — (Vilayet d'Angora.) En novembre 1898, une commission, composée de Galib-bey (professeur aux Écoles vétérinaires militaire et civile); d'Abdullah bey (inspecteur vétérinaire au ministère de l'Agriculture); de Nicolaki Effendi (professeur à l'École vétérinaire civile) et de l'un de nous<sup>1</sup> fut envoyé à Yozgat pour établir d'une façon officielle et définitive l'utilité du traitement sérothérapique. Cette commission constata que la peste, qui régnait depuis six mois et avait occasionné des pertes considérables (plus de 30,000 animaux),

1. Le Dr RÉFIK-BEY.

provenait de Zileh (vilayet de Trébizonde). A Zileh se tient chaque année une grande foire. En 1898, on amena à cette foire des animaux de la région de Baffra (alors fortement éprouvée, comme nous l'avons appris depuis) ; ces animaux en contaminèrent nombre d'autres qui apportèrent, à leur retour, l'affection dans la zone de Yozgat. Pareillement la foire annuelle de Yozgat fut l'origine de plusieurs épidémies qui s'étendirent jusqu'à Kir-Chehir (vilayet d'Angora). Les pertes, dans les villages visités par la commission, fut de 44,4 0/0 (races noires et buffles). Le traitement sérothérapique a fait disparaître rapidement la maladie.

Pendant ces dernières années, nous avons eu connaissance de nombreuses épizooties, qui sévirent dans diverses provinces de l'Empire (Moussoul, Diarbékir, Adana, Alep, Damas, Beyrouth, etc.). Nous avons pu étudier, en octobre 1898, à Constantinople même (Kutchuk-Tchiftlik), une petite épidémie dont l'origine est restée assez obscure et que les vaccinations ont fait cesser immédiatement.

L'observation attentive des épidémies précédentes nous a convaincus que la peste bovine se transmet surtout par le contact direct. C'est également l'opinion de nombreux auteurs (Koch, Nencki et ses élèves, etc.). Les animaux malades, les personnes qui les soignent, sont les agents habituels de la contamination. Les fourrages, les cornes, peaux, etc., peuvent également intervenir dans la transmission de la maladie. Par contre, le rôle du sol et des eaux nous paraît nul<sup>1</sup>. Les locaux infectés ne restent pas longtemps dangereux, si nous en croyons nos observations. Pour nous, le virus de la peste est essentiellement fragile et incapable de développement dans le milieu extérieur. Il suffirait donc, le plus souvent, des précautions les plus simples pour éviter l'infection. C'est ce que démontrent les faits suivants. Dans plusieurs villages, nous avons vu les habitants établir eux-mêmes des cordons et préserver ainsi leurs troupeaux. En 1898, dans le village de Mouha, le nommé Izzet-agma, dont l'étable n'était séparée d'une étable infectée que par une cloison de planches, réussit à protéger ses animaux en les tenant séquestrés pendant le temps que dura le typhus. Nous avons observé pareils faits dans les diverses épidémies. Enfin, à l'Institut Bactériologique,

1. Le rôle des insectes, admissible en théorie, ne nous a jamais paru évident jusqu'ici. Il y aurait lieu d'instituer des expériences précises à cet égard.



nous n'avons jamais constaté de contamination d'une case à l'autre, circonstance qui tient à ce que les animaux infectés sont soignés exclusivement par un personnel spécial. Nous ajouterons, en passant, que jamais non plus nous n'avons pu contaminer les animaux en les plaçant dans une case préalablement infectée, puis désinfectée avec soin (lavages au crésyl) : le virus paraît donc facile à détruire.

Mais, quelque élémentaires en apparence que soient les précautions indiquées, l'infection se produit avec une extrême facilité si on les néglige. L'histoire des épidémies le prouve surabondamment : rien n'est plus simple aussi que de contaminer les bovidés par cohabitation.

D'un village (ou d'un pays) à un autre la peste se transmet donc, dans la majorité des cas, par l'intermédiaire des animaux malades. La diffusion est en raison directe de la facilité des communications. La rareté des routes, la nature accidentée du sol, l'hiver rigoureux, sont les causes qui circonscrivent d'ordinaire le typhus.

#### FORMES CLINIQUES. — MALADIES ASSOCIÉES

Dans le plus grand nombre des cas, la peste bovine naturelle ne diffère pas de la maladie inoculée, telle qu'elle a été déjà décrite dans ces *Annales*. Mais à côté de cette affection type, cyclique, on observe parfois d'autres formes qu'il convient de mentionner ici.

FORME TYPE. — Nous la résumerons brièvement, en insistant seulement sur la marche de la guérison. Au point de vue de l'application du sérum, nous la divisons en trois phases.

1. *Phase fébrile*. — Elle s'annonce (après une incubation de 3 à 5 jours) par une élévation thermique supérieure à 40° (et le plus souvent à 40°,5), et se traduit par la fièvre et l'inappétence : pas d'autres signes. La durée est de 2 à 3 jours.

2. *Phase des lésions externes*. — Exprimée par la conjonctivite, le coryza et la stomatite. La fièvre se maintient sans rémissions notables et l'état général s'aggrave (tristesse, abattement, anorexie complète). La durée est de 2 à 3 jours.

3. *Phase des lésions gastro-intestinales*. — Elle débute par la diarrhée (alimentaire, puis séreuse et souvent sanguinolente), à laquelle vient se joindre rapidement l'hypothermie dans les cas

mortels. Lorsque la terminaison fatale doit se produire (après 1 à 2 jours, rarement plus) les phénomènes généraux s'aggravent à vue d'œil. Si, au contraire, l'animal doit guérir, tout se borne à une augmentation de la faiblesse, et à une émaciation de plus en plus marquée.

*Guérison.* — Elle s'annonce, assez brusquement, par le retour de l'appétit ; l'animal accepte les boissons et prend même quelques aliments solides ; la station debout est plus fréquente qu'auparavant. Puis le jetage et le larmolement diminuent et cessent en un à deux jours ; les érosions buccales se détergent et se cicatrisent en trois ou quatre jours ; la diarrhée persiste plus longtemps. Il n'est pas rare, en effet, de voir des animaux qui ont déjà repris leur vivacité habituelle et dont l'appétit est redevenu satisfaisant, présenter encore une diarrhée abondante (et même sanguinolente) durant plus d'une semaine. A peine la guérison s'annonce-t-elle que la fièvre tombe, d'habitude progressivement (chute en escalier). Il est à noter que les sujets qui ont subi une atteinte tant soit peu forte maigrissent beaucoup au début de la convalescence et ne reprennent que lentement leur poids primitif.

Parfois, surtout lorsqu'il s'agit d'animaux jeunes, la guérison n'est qu'apparente et la mort survient en deux à trois semaines par épuisement, avec une diarrhée persistante.

*Lésions.* — Elles ne diffèrent pas de celles qui ont été mentionnées dans un travail précédent. Nous noterons seulement que la tuméfaction et l'ulcération des plaques de Payer et des follicules clos de l'intestin sont certainement plus fréquentes dans l'affection naturelle que dans la maladie expérimentale.

*FORME INTESTINALE.* — Parfois, un ou deux jours après le début de la fièvre, la diarrhée se manifeste comme première localisation ; elle reste le symptôme principal, mais n'apporte pas par elle-même un élément spécial de gravité. Les autres lésions sont d'ordinaire peu accentuées et peuvent manquer partiellement.

*FORMES INCOMPLÈTES.* — Elles échappent à toute description, car on peut observer diverses combinaisons symptomatiques. Disons seulement que la conjonctivite manque dans un certain nombre de cas, le coryza également ; la diarrhée moins souvent, la stomatite plus rarement encore, la fièvre *jamais*. Les formes

incomplètes, fréquemment curables, se voient principalement chez la race grise.

**FORME DES JEUNES ANIMAUX.** — Les sujets âgés de moins de 6 à 8 mois peuvent succomber sans avoir présenté d'autres signes que la fièvre et l'abattement. Le fait n'est pas rare. La faiblesse peut être assez accentuée pour simuler une véritable paralysie des membres. Cette forme curieuse a été observée également dans les expériences faites à l'Institut Bactériologique. A l'autopsie, on ne rencontre comme lésions caractéristiques que l'aspect spécial du foie (foie « en cire »).

**MORTALITÉ.** — Les races perfectionnées paient toujours un lourd tribut au typhus. Pour elles on peut évaluer la mortalité à plus de 80 0/0 (souvent même à plus à 95 0/0). Les autres races, ainsi que les buffles, se montrent plus, ou moins sensibles selon les épidémies, et selon les localités atteintes pendant une même épidémie.

Le tableau suivant démontre pleinement ce dernier point.

**Région de Yozgat. Mortalité des bovidés (races noires), dans huit villages atteints en même temps.**

Salir.....	30 3 %
Kemalli.....	32 5 %
Erbeke.....	36 5 %
Peyk.....	37 9 %
Akdja-Dam.....	39 %
Dédé-Fakılı.....	42 6 %
Dayli.....	43 3 %
Akdja-Kiebla.....	67 8 %

Il faut donc tenir compte, pour expliquer le chiffre de la mortalité, non seulement de la race, mais encore des circonstances épidémiques, c'est-à-dire du degré d'activité du virus à un moment et à un endroit donnés.

La mortalité des races noires dans les villages visités par la Commission ministérielle (Yozgat) a été de 44,4 0/0 en moyenne. La mortalité pour les mêmes races dans le vilayet d'Aïdin a dépassé 70 0/0 (moyenne de l'année 1898); et près d'Aïdin, dans le village d'Eski-Tchiftlik, nous avons vu périr plus de 95 0/0 des animaux.

Il faudrait tenir compte également de l'immunité conférée par les atteintes antérieures. Toutefois, ce dernier facteur n'a joué aucun rôle dans les localités où nous nous sommes rendus.

A moins de rassembler des chiffres considérables, on risquerait donc d'aboutir à des conclusions inexactes si l'on voulait



juger de la sensibilité absolue des diverses races par l'étude des épidémies. Or, cette sensibilité doit servir de base à la sérothérapie. Aussi importe-t-il de la déterminer par l'expérimentation directe. Voici, à cet égard, ce qui a été observé à l'Institut Bactériologique par M. le Dr Nicolle et Adil bey.

1. Les races perfectionnées et les races noires succombent *toujours* à l'infection expérimentale. La race grise peut résister ou contracter une maladie curable; elle est donc bien moins sensible que les autres.

2. La quantité de sérum nécessaire pour préserver (et surtout pour guérir) les animaux des races perfectionnées est *toujours* supérieure à celle que nécessitent les races noires.

Aussi divisons-nous pratiquement les bovidés en trois groupes: races moyennement sensibles (race grise); races sensibles (races noires); et races très sensibles (races perfectionnées): Alep, Crimée, Egypte, Odessa). Les buffles tiennent le milieu entre les races noires et la race grise. Comme nous n'avons pas fait d'expériences sur eux, nous les assimilons, d'après l'observation clinique et provisoirement, aux races noires, au point de vue sérothérapique.

#### PESTE BOVINE ET MALADIES ASSOCIÉES

**MALARIA DES BOVIDÉS.** — Cette affection a déjà été décrite ici, soit comme maladie naturelle (animaux importés) soit comme maladie expérimentale associée à la peste bovine (animaux indigènes). Nous dirons un mot des rapports de la malaria avec le typhus chez les animaux indigènes et lors des épizooties.

La fréquence des hématozoaires chez les bovidés atteints de peste est des plus variables. Voici quelques chiffres :

*Epidémies de Roumélie.* — Le sang de tous les animaux examinés à Soubachi et à Doursounkeuy contenait le pirosuma. Sur 36 bovidés suivis quotidiennement à Tchanakdja et Eurdjunli, 15 ont présenté des hématozoaires. Lors de l'épidémie de Hal-kali le parasite existait dans la moitié des cas.

*Epidémies du vilayet d'Aïdin.* — A Eski-Tchiftlik 17 animaux ont été examinés (une seule fois), 16 ont montré le pirosuma. A Sidi Keuy et à Soma (près de Smyrne) les trois cinquièmes des bovidés contenaient l'agent malarique dans le sang.

D'ordinaire le parasite reste latent; rien n'indique sa pré-

sence et il paraît sans influence sur la marche de la peste. Quelquefois il se traduit par une fluidité spéciale du sang, qui noircit rapidement après la mort; plus rarement par les signes classiques de la fièvre du Texas. Inutile de rappeler ce qui a été déjà dit dans ces *Annales*. Lorsque l'hématozoaire demeure latent, il semble n'entraver en rien l'action du sérum antipestique; au contraire, lorsqu'il se manifeste par les symptômes malariques, il semble empêcher le plus souvent toute thérapeutique.

FIÈVRE APHTEUSE. — Il est aisé de distinguer cette affection du typhus contagieux. Mais il faut savoir qu'elle peut coexister avec lui. Nous en avons vu plusieurs exemples. La fièvre aphteuse se reconnaît aux lésions caractéristiques de la langue, de la lèvre supérieure, de l'espace interdigité, etc. Elle n'a pas paru aggraver sensiblement la peste bovine, mais nos observations sont insuffisantes pour trancher cette question de pronostic.

#### SÉROTHÉRAPIE

Les premières expériences de sérothérapie ont été entreprises au laboratoire et répétées pendant un certain temps à titre de démonstration. La première application en grand n'a pu avoir lieu qu'au moment de l'épidémie de Halkali. Comme les résultats ont été excellents, le Ministère de l'Agriculture a décidé d'intervenir immédiatement lors des épizooties de Yozgat et de Tchorlou. En même temps l'Institut Bactériologique était chargé de préparer une plus grande quantité de sérum. Le sérum employé par nous était toujours actif à la dose préventive minima de 25 c. c. (titrage par le procédé Kolle et Turner). Toutes les fois qu'il a été possible, on a mélangé le sérum fourni par les divers animaux hyperimmunisés. Le titre de ce mélange est descendu progressivement de 25 à 5 c. c. (chiffre actuel, communiqué par M. le Dr Nicolle et Adil bey). Les doses injectées ont été souvent inférieures (trop inférieures même) à celles qu'indique l'*instruction ci-jointe*. C'était une conséquence forcée des premiers essais en grand, sur des races variées et dans des épidémies de gravité différente.

#### INSTRUCTION POUR L'APPLICATION DU SÉRUM ANTIPESTIQUE<sup>1</sup>

Prendre la température de tous les animaux de l'endroit contaminé. Ceux qui présentent une élévation thermique égale ou supérieure à 40° seront

1. Nous proposons d'appeler ainsi ce sérum (par abréviation) afin de le distinguer du sérum antipesteux d'Yersin.

considérés comme *malades*, qu'ils aient ou non les signes classiques de l'affection. Ceux qui n'ont pas de fièvre seront considérés comme *suspects*. D'où deux modes d'intervention : préventive (traitement des suspects) et curative (traitement des malades).

*Traitement préventif.* — Parmi les suspects, il peut y avoir des sujets sains et des sujets en voie d'incubation : rien ne permet de les distinguer dès l'abord. Deux méthodes peuvent être appliquées aux suspects, quelle que soit leur race.

1<sup>o</sup> *Méthode générale* <sup>1</sup>. — Injecter 25 c. c. de sérum. Prendre la température le troisième et le cinquième jour (c'est-à-dire après deux fois et après quatre fois 24 heures). Si l'animal reste apyrétique, la vaccination est terminée. S'il montre, lors d'une des prises des températures, une élévation égale ou supérieure à 40°, on injectera une seconde dose de 25 c. c. Dans ce dernier cas, il est évident que l'animal était déjà en incubation au moment de la première intervention. (L'incubation de la peste bovine est, en moyenne, de 4 fois 24 heures.)

2<sup>o</sup> *Méthode d'exception*. — Si l'on se trouve dans l'impossibilité de suivre les animaux, on injectera 50 c. c. de sérum en une fois et la vaccination sera terminée. Ce procédé simple et rapide a l'inconvénient de dépenser trop de sérum <sup>2</sup>.

*Traitement curatif.* — La peste bovine confirmée offre pratiquement trois phases : période fébrile (fièvre et anorexie) ; période des lésions externes (conjonctivite, coryza, stomatite) ; période des lésions gastro-intestinales (diarrhée, puis algidité).

On emploiera des doses de sérum variables selon l'âge de la maladie et la race des animaux.

1<sup>re</sup> période. — Injecter une fois pour toutes :

Aux races moyennement sensibles (race grise de Roumèlie).	100 c.m.c.
Aux races sensibles (races noires d'Anatolie).....	150 c.m.c.
Aux races très sensibles (races de Crimée, Odessa, Alep, Égypte).....	200 c.m.c.

Les buffles sont assimilables, comme sensibilité, aux animaux de race noire.

2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> Périodes. — Injecter une fois pour toutes :

Aux races moyennement sensibles.....	200 c.m.c.
Aux races sensibles.....	250 c.m.c.
Aux races très sensibles.....	300 c.m.c.

1. Cette injection du sérum en deux fois a été employée déjà par MM. Danys et Bordet dans un procédé différent (sérum et virus).

2. Il est évident que l'immunité conférée par le sérum serait encore plus durable si l'on injectait des doses supérieures à celles que nous indiquons ici. La quantité de sérum dont nous disposons ne nous permet pas de dépasser un maximum de 50 c. c. Du reste notre sérum possède actuellement une grande activité.

L'intervention à la troisième période est contre-indiquée en présence d'une diarrhée profuse, d'un état général trop grave et, naturellement, d'un début d'hypothermie (température égale ou inférieure à 40°). D'ailleurs, pour l'opportunité de cette intervention, le vétérinaire se basera sur la marche de l'affection, la sensibilité des races, la gravité de l'épidémie régnante et la quantité de sérum dont il dispose.

*Remarques.* — Dans les cas graves, l'injection intra-veineuse est supérieure à l'injection sous-cutanée.

Les sujets soumis au traitement devront être protégés contre le froid et régulièrement alimentés (thé de foin, barbotages de farine, et même lait, s'il s'agit d'animaux de prix); au besoin on introduira directement les boissons dans le pharynx. Ces soins constituent un complément important de la sérothérapie. Le traitement échouera le plus souvent chez les animaux déjà tuberculeux ou chez ceux qui sont atteints à la fois de peste bovine et de malaria des bovidés.

Les doses prescrites pour le traitement curatif ont été *intentionnellement exagérées*. Lorsque le personnel vétérinaire sera complètement familiarisé avec la sérothérapie antipestique, nous indiquerons dans quelle mesure on peut les réduire...

Suit la technique de l'injection du sérum, qui n'offre pas d'intérêt spécial. Chaque vétérinaire est muni d'un nécessaire contenant tous les instruments indispensables.

Après entente avec le Ministère de l'Agriculture il a été décidé de se borner provisoirement à la sérothérapie comme unique moyen préventif. Plus tard, on pourra entreprendre des vaccinations avec le sérum et le virus. Nous avons plusieurs fois fait usage, à titre de démonstration, du procédé de MM. Kolle et Turner. Il nous a donné de bons résultats.

Voici maintenant nos statistiques concernant l'emploi du sérum:

#### ÉCOLE D'AGRICULTURE DE HALKALI

Mortalité avant l'intervention (races perfectionnées et race grise).....		81,5 %
Animaux traités préventivement.	{ sains : 29 (21 gris, 8 perfection- nés); en incubation : 42 (1 gris, 41 perfectionnés);	{ Pas de mortalité.
Animaux traités curativement (tous de races perfectionnées).	{ 1 <sup>re</sup> période 8; mortalité .. 2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> périodes 9; morta- lité.....	{ 42,5 % 22,2 %

(Nous n'avons pas fait figurer dans ce tableau : 2 animaux inoculés au stade hypothermique; 1 animal mort de charbon pendant son rétablissement; et 1 mort d'hémoglobinurie associée.)



## RÉGION DE YOZGAT

1<sup>o</sup> Villages où s'est rendu la Commission désignée par le ministère de l'Agriculture.

Mortalité avant l'intervention (races noires et quelques buffles).	44,4 %				
Animaux traités préventivement (tous ces animaux ont été ensuite exposés à la contamination).	<table> <tr> <td>sains : 862 ; mortalité.....</td><td>0,4 %</td></tr> <tr> <td>en incubation : 60 ; mortalité..</td><td>1,7 %</td></tr> </table>	sains : 862 ; mortalité.....	0,4 %	en incubation : 60 ; mortalité..	1,7 %
sains : 862 ; mortalité.....	0,4 %				
en incubation : 60 ; mortalité..	1,7 %				
Animaux traités curativement.	<table> <tr> <td>1<sup>re</sup> période : 79 ; mortalité....</td><td>6,3 %</td></tr> <tr> <td>2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> période : 12 ; mortalité.</td><td>23 %</td></tr> </table>	1 <sup>re</sup> période : 79 ; mortalité....	6,3 %	2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> période : 12 ; mortalité.	23 %
1 <sup>re</sup> période : 79 ; mortalité....	6,3 %				
2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> période : 12 ; mortalité.	23 %				

Les animaux traités (préventivement et curativement) appartenait aux races noires ; parmi eux se trouvaient 40 buffles.

(On n'a pas fait figurer dans la statistique 8 animaux morts d'hémoglobinurie associée.)

2<sup>o</sup> Village de Sousiz keney. Statistique du vétérinaire du vilayet d'Angora, Wasfi Effendi.

Mortalité avant l'intervention (races noires).....	57,4 %			
Animaux traités préventivement.	<table> <tr> <td>Sains : 87.</td><td rowspan="2">} Pas de mortalité.</td></tr> <tr> <td>En incubation : 6.</td></tr> </table>	Sains : 87.	} Pas de mortalité.	En incubation : 6.
Sains : 87.	} Pas de mortalité.			
En incubation : 6.				
Animaux traités curativement.	<table> <tr> <td>1<sup>re</sup> période : 3 ; pas de mortalité.</td><td rowspan="2">}</td></tr> <tr> <td>2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> périodes : 3 ; 2 morts.</td></tr> </table>	1 <sup>re</sup> période : 3 ; pas de mortalité.	}	2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> périodes : 3 ; 2 morts.
1 <sup>re</sup> période : 3 ; pas de mortalité.	}			
2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> périodes : 3 ; 2 morts.				

## TCHORLOU

Mortalité avant l'intervention (race grise et 1/3 de buffles).....	72,5 %				
Animaux traités préventivement.	<table> <tr> <td>Sains et en incubation : 2,088 ; mortalité.....</td><td>0,14 %</td></tr> </table>	Sains et en incubation : 2,088 ; mortalité.....	0,14 %		
Sains et en incubation : 2,088 ; mortalité.....	0,14 %				
Animaux traités curativement.	<table> <tr> <td>1<sup>re</sup> période : 35 ; mortalité...</td><td>14 %</td></tr> <tr> <td>2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> périodes : 38 ; mortalité.</td><td>26 %</td></tr> </table>	1 <sup>re</sup> période : 35 ; mortalité...	14 %	2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> périodes : 38 ; mortalité.	26 %
1 <sup>re</sup> période : 35 ; mortalité...	14 %				
2 <sup>e</sup> et 3 <sup>e</sup> périodes : 38 ; mortalité.	26 %				

Les tableaux précédents montrent une fois de plus que le sérum constitue un excellent moyen préventif et curatif. Si les chiffres ne sont pas aussi parfaits que ceux obtenus dans les expériences de laboratoire, cela tient à ce que, d'abord, nous n'avons pas toujours injecté des quantités de sérum suffisantes ; ensuite (et surtout) nous avons dû, à plusieurs reprises, et vu l'urgence, faire usage de sérums de force variable.

Ces conditions défavorables étaient d'ailleurs prévues d'avance et n'ont pas empêché le Ministère de l'Agriculture de considérer les résultats comme des plus satisfaisants.

---

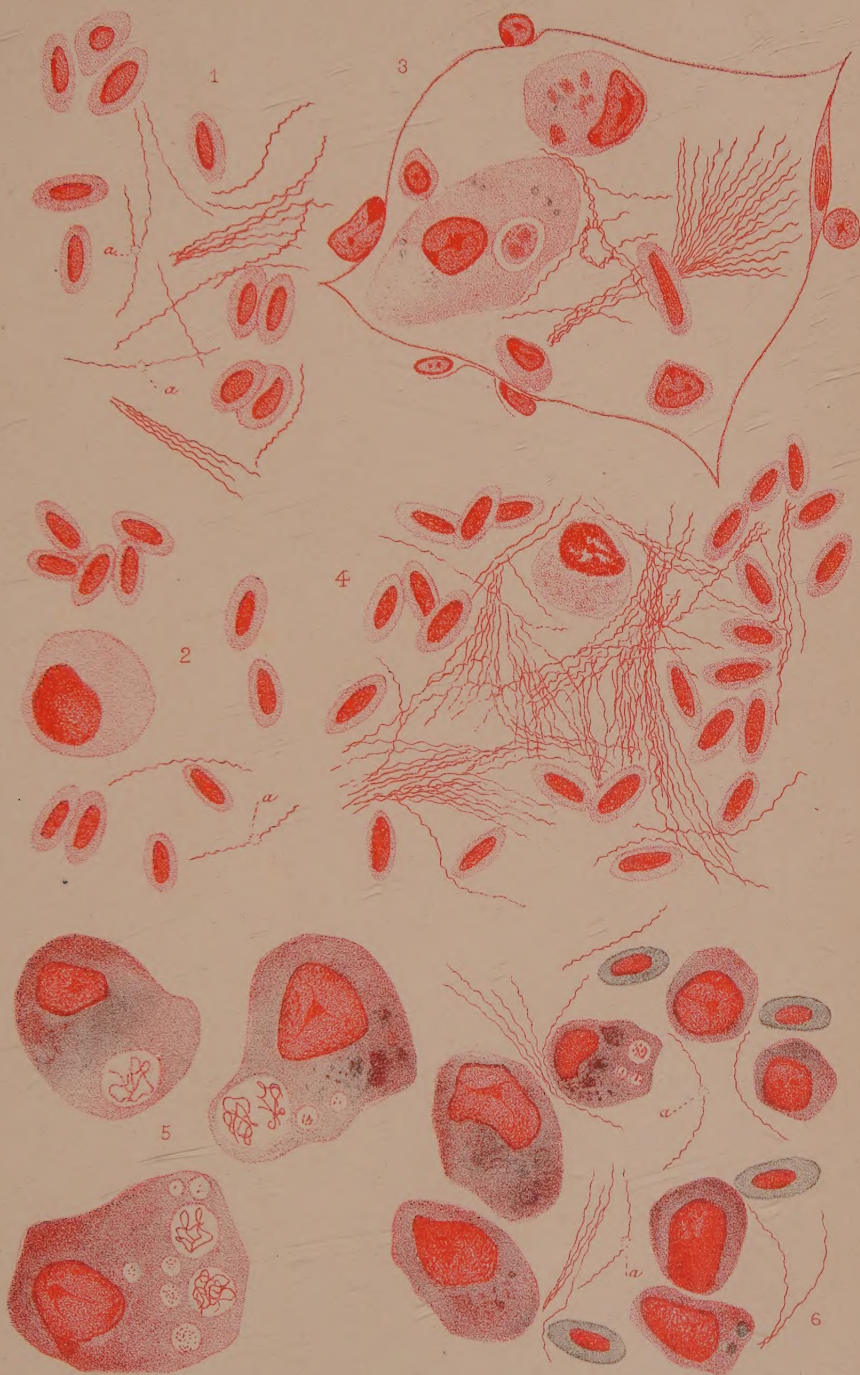
Le Gérant : G. MASSON.

---

Sceaux. — Imprimerie E. Charaire.







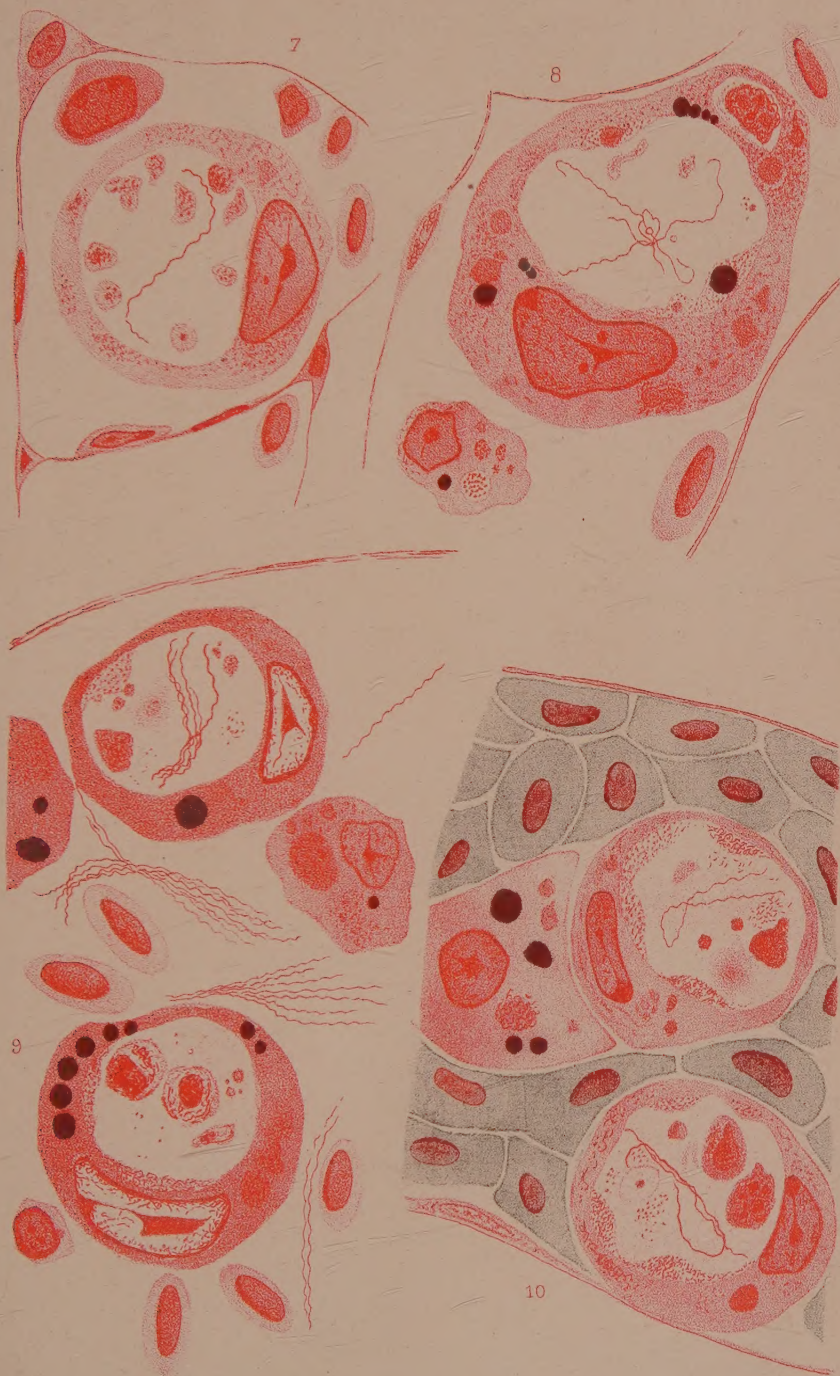
*J. Cantacuzène, del.*

*V. Roussel, lith.*

*Imp. L. Lafontaine, Paris.*







J. Cantacuzène, del.

V. Roussel, lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris.

